

## NOTA TÉCNICA

### Contenido de aminoácidos esenciales de un hidrolizado de proteína utilizado como suplemento en dieta de gallinas ponedoras

**Technical Note: Essential Aminoacid Contents of Protein Hydrolyzed Supplements Used in the Diet of Laying Hens**

*Manuel Colas Chavez\**, *José Daniel Bernal Mesa\**, *Yanet Támbara Hernández\*\**, *Edmundo O. Pérez\**, *Armando Sánchez Prieto\**

**\*Universidad Agraria de la Habana, UNAH, Facultad de Medicina Veterinaria, Cuba**

**\*\*Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, La Habana, Cuba**

**manuelcc@unah.edu.cu**

---

### INTRODUCCIÓN

El perfil dietético ideal de aminoácidos para las gallinas ponedoras no está tan estudiado como en los pollos parrilleros y cerdos; sin embargo, el uso del perfil de proteína ideal para determinar el contenido de aminoácidos dietario tiene ventajas sobre los requerimientos de aminoácidos determinados empíricamente (Bregendahl y Robert, 2009).

Los hidrolizados de proteína (HP) tienen un amplio rango de aplicación como ingredientes en la formulación de alimentos especiales (dietas purificadas, suplementos proteicos, entre otros) ya que mejoran la digestibilidad de la proteína y disminuyen las propiedades alergénicas. La funcionalidad de los péptidos provenientes de hidrolizados proteicos depende fundamentalmente del control del proceso de hidrolizado, en aspectos como tamaño molecular, estructura y secuencias específicas de aminoácidos (Guerrero *et al.*, 2012).

En Cuba, desde finales de la década del setenta, se comenzaron a utilizar productos derivados de fuentes proteicas que, en no pocas ocasiones, se desperdiciaban, cuando estas podían contribuir a la sustentabilidad productiva. La sangre animal es una de ellas y la misma constituye una valiosa fuente de proteínas y aminoácidos esenciales. Según Barboza *et al.* (1994) la fácil digestibilidad y calidad en la composición de aminoácidos de la sangre y sus fracciones les confieren a sus proteínas un alto valor biológico, razón por la cual ha sido incorporada en la formulación de diferentes alimentos para consumo humano y animal.

El HP es un subproducto producido en LABIOFAM, considerado un derivado de la sangre bovina y posee un 30 % de sangre bovina y se utiliza como bioestimulante. Se ha utilizado como estimulante biógeno en terneros y cerdos con alteraciones digestivas y neumónicas. En las aves, se ha empleado este producto en pollitas de la línea pura L1 en crecimiento con resultados positivos sobre la ganancia en peso corporal; así como en gallinas de esta misma línea, pero en conjunto con un suplemento vitamínico para la corrección del picaje.

En la composición del producto es de interés caracterizar los aminoácidos, considerados componentes esenciales de un número de preparados que se usan con fines farmacéuticos y agrícolas.

La derivatización de los aminoácidos para posibilitar su determinación mediante la cromatografía de gases es un procedimiento factible de ser usado en el análisis de hidrolizados (Hušek, 1991; Khan, 2014).

El objetivo del estudio fue determinar el contenido de aminoácidos esenciales de un hidrolizado de proteína, utilizado como suplemento en dietas de gallinas ponedoras.

### DESARROLLO

El trabajo se efectuó en febrero del 2015 sobre un hidrolizado de proteínas (Tabla 1) producido por la fábrica de biopreparados LABIOFAM localizada en la UEB del Valle de Yumurí, Matanzas, caracterizado por ser líquido y tener 22 % de proteína. El lote empleado fue el No. 1409190 – 4.

## Contenido de aminoácidos esenciales de un hidrolizado de proteína utilizado como suplemento en dieta de gallinas ponedoras

El contenido de aminoácidos libres del hidrolizado fue determinado en el Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología (CIGB) con el uso del juego de reactivos Phenomenex EZ: faast™ (Phenomenex, EEUU). La derivatización y medición de los aminoácidos libres de la muestra se realizó según lo descrito en el protocolo del juego de reactivos. Se añadió a cada muestra antes de la derivatización, el aminoácido norvalina (nVal), que no forma parte de las proteínas, como estándar interno. Se hizo una extracción en fase sólida, para capturar los aminoácidos libres por la matriz depositada en una punta de pipeta; esta matriz se lavó para eliminar otros reactivos y contaminantes. Se eluyó la matriz y se prepararon los derivados volátiles (alquilcloroformatos) de los aminoácidos libres; que luego se determinaron en un cromatógrafo de gases Agilent Technologies 7890A con detector de ionización de llama.

Se confeccionó una curva de calibración de tres niveles de concentración de la mezcla de los aminoácidos patrones a identificar y cuantificar; el cálculo se realizó por el método del estándar interno. Se realizaron inyecciones de 2 µL, por triplicado de tres volúmenes del hidrolizado (5, 10 y 20 µL) con un inyector automático Agilent Technologies 7683 a una temperatura de 250°C, en modo splitless (sin división de caudal). Se utilizó una columna EZFAAST de 10 m de largo, 0,25 mm de diámetro interno, 0,1 µm de espesor de película, como gas portador fue utilizado H<sub>2</sub> (g) a un flujo de 1,2 mL/min. Se trabajó con un gradiente desde una temperatura inicial de 110°C hasta 320°C a 20 °C/min. El detector se utilizó a 320°C con un flujo de H<sub>2</sub> (g) de 35 mL/min y de aire de 350 mL/min. Todos los módulos fueron controlados por el programa Agilent MSD Productivity ChemStation versión B.02.02.

A los datos obtenidos de los aminoácidos cuantificados de la muestra de HP con los valores de los tres volúmenes, se le realizó un análisis unidimensional de descripción con el apoyo del paquete estadístico STATGRAPHICS PLUS versión 5.1.

En la Fig 1 se evidencia que de los 15 aminoácidos esenciales analizados: valina, leucina, serina y fenilalanina presentan valores superiores de 1,0 nmoles/µL; sin embargo, alanina, glicina, aspártico, glutámico, lisina, y tirosina están entre 0,5-0,99 nmoles/µL, y con valores inferiores a 0,5 nmoles/uL se aparecen la isoleucina, treonina, prolina e histidina.

La ausencia de metionina y los bajos valores del triptófano en el HP, pueden deberse a que durante el proceso tecnológico que se realiza a base de una hidrólisis ácida (ácido clorhídrico entre 35 y 38 %), se destruyen ambos en un alto porcentaje (LABIOFAM, 2007). Al respecto Nicodemus et al. (2011), destacan que la metionina y la lisina son los aminoácidos limitantes en las dietas de maíz-soya para las gallinas ponedoras y que influyen sobre el tamaño de huevo y la producción, ya que junto con la cisteína son una de las principales fuentes de azufre para el organismo animal. También Joly (2008) refiere que es importante fijar el requerimiento de metionina y cisteína en la dieta.

Aunque se obtuvieron en el análisis del HP también bajos valores de triptófano y treonina, estos son fundamentales para ser incorporados en la dieta de las aves de postura ya que según Dos Santos *et al.* (2013), la treonina y el triptófano se consideran aminoácidos limitantes en la dieta de las aves de producción; y que intervienen en la adecuada síntesis de proteínas corporales, principalmente las denominadas plásticas, constituyentes de la estructura del cuerpo animal como músculo y plumas.

Jordao *et al.* (2006) plantean que la treonina tiene una exigencia mayor, con el avance de la edad de las aves para garantizar el mantenimiento de las mismas. Jansman (2005), refiere que el triptófano, además juega un papel como precursor de la serotonina y de la hormona melatonina; por lo que, este aminoácido y sus derivados poseen efecto sobre el consumo de alimento y eventos conductuales tales como: el tiempo que los animales están despiertos o dormidos, el comportamiento y la percepción del dolor.

## CONCLUSIONES

Se concluye que, aunque no se encontró la metionina que es uno de los aminoácidos más importantes para la producción y calidad de los huevos, se encontraron otros que pueden ser incorporados en la dieta de las gallinas ponedoras.

## REFERENCIAS

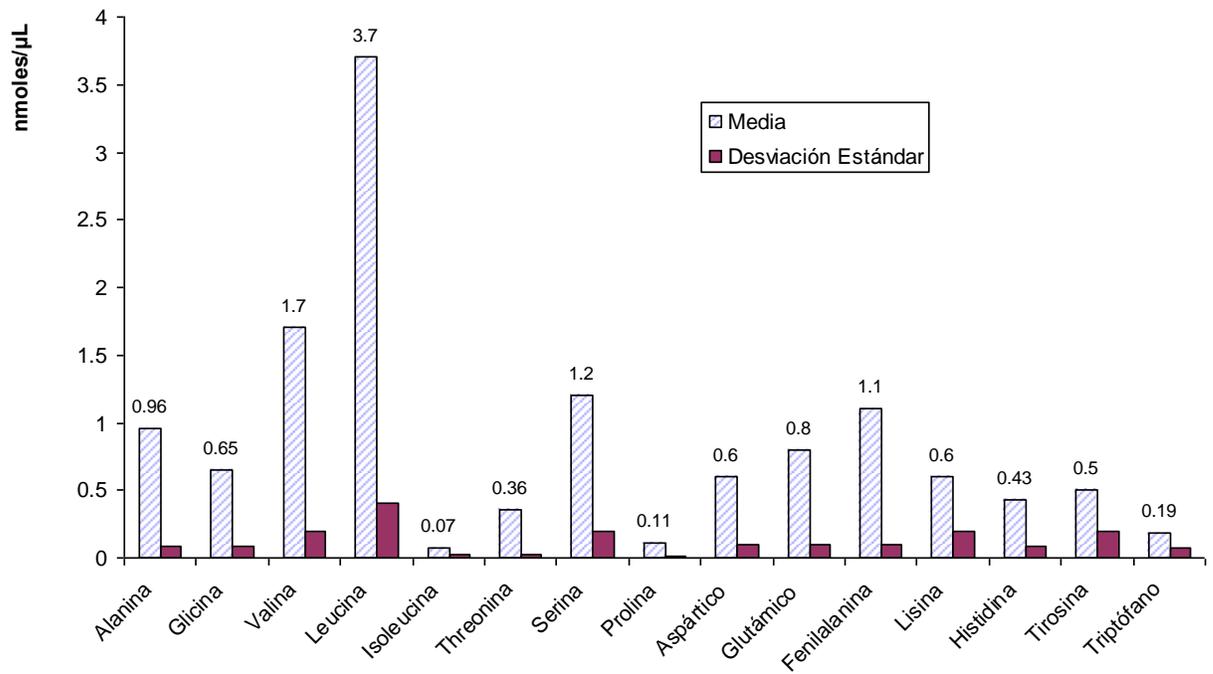
- BARBOZA, Y.; MÁRQUEZ, E.; Arias, B.; FARÍA, J. y CASTELLÓN, O. (1994). Utilización del plasma sanguíneo de bovino como fuente proteica en la formulación de un medio de cultivo para lactobacilos. *Revista científica*, 4 (1), 55-59.
- BREGENDAHL, K. y ROBERT, S. A. (2009). *The Ideal Amino Acid Profile for Laying Hens*. Recuperado el 5 de septiembre de 2016, de [http://www.intervet.co.th/binaries/53%20The%20Ideal%20Amino%20Acid%20Profile%20for%20Laying%20Hens\\_tcm125-168610.pdf](http://www.intervet.co.th/binaries/53%20The%20Ideal%20Amino%20Acid%20Profile%20for%20Laying%20Hens_tcm125-168610.pdf).
- DOS SANTOS, A. L.; CALLEJO, A.; NICOMODUS, N.; GUTIÉRRES, A. y MILLAMIDE, M. J. (2013). *Exigencia nutricional de treonina digestible para gallinas ponedoras durante el período de 55 a 61 semanas de edad. 1. Nivel de producción*. Congreso Científico de Avicultura, 2 al 4 de octubre, España.
- GUERRERO, A.; PAZ, J.; Luz, L. S. y VARGAS, R. A. (2012). *Efecto de la desnaturalización térmica e hidrólisis química de proteínas sobre la cinética de hidrólisis enzimática*. Colombia: Ediciones Luz.
- HUŠEK, P. (1991). Amino Acid Derivatization and Analysis in Five Minutes. *FEBS Letters*, 280 (2), 354-356. Recuperado el 21 de noviembre de 2016, de [www.sciencedirect.com/science/journal/00145793/280/2](http://www.sciencedirect.com/science/journal/00145793/280/2).
- JOLY, P. (2008). *Reevaluation of Amino Acids Requirements for Laying Hens*. Recuperado el 23 de septiembre de 2016, de [www.engormix.com](http://www.engormix.com).
- JORDAO, J.; SILVA, J. y SILVA, E. L. (2006). Exigência de Lisina para poedeiras semipesadas durante o pico de postura. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 35 (4), 1728-1734.
- KHAN, A. I. (2014). GC Analysis of Derivatized Amino Acids. *Thermo Cientific Application Note 20560*. Recuperado el 15 de noviembre de 2016, de <http://www.tools.thermofisher.com/content/sfs/brochures/AN-20560-GC-Amino-Acids-AN20560-EN.pdf>.
- LABIOFAM (2007). *Proceso tecnológico para la fabricación de biopreparados. Hidrolizado de proteínas*. La Habana, Cuba: LABIOFAM.
- NICODEMUS, N.; CALLEJO, A.; CALLE, A.; GUTIÉRREZ, A.; VILLAMIDE, M. J. y PÉREZ, P. (2011). *Relación óptima de metionina+cistina/lisina digestibles en gallinas Isa Brown de 34 a 42 semanas de edad*. XIV Jornadas sobre Producción Animal, Madrid, España.

Recibido: 12-1-2017

Aceptado: 20-1-2017

**Tabla 1. Principales componentes y proporciones básicas del hidrolizado de proteína**

No.	Componentes	Proporciones básicas
1	Anticoagulante (citrato de sodio)	3,8 g / 1 L de sangre a emplear
2	Antibiótico (oxitetraciclina)	1 g / 1 L de sangre a emplear
3	Sangre bovina entera	300 L / 1 000 L de producto final
4	Fenol (2,0 %)	2,83 L / 1 000 L de producto final
5	Ácido clorhídrico (35-38 %)	4 L / 1 000 L de producto final
6	Agua	694 L / 1 000 L de producto final



**Fig 1. Contenido promedio de los tres volúmenes del hidrolizado de proteína**