

Alimentación y Nutrición

EVALUACIÓN DE LA POTENCIAL BIOACCESIBILIDAD DE DIFERENTES PROTEÍNAS DE LEGUMINOSAS UTILIZANDO MODELOS *IN VITRO* DE DIGESTIÓN DE PECES

Francisca P. Martínez-Antequera¹, M^a Jesús Aznar García¹, J. A. Martos-Sitcha², Juan Miguel Mancera² y Francisco Javier Moyano¹

¹ Dpto. Biología y Geología. Fac. Ciencias Experimentales. Univ. de Almería. 04120. Almería

² Dpto. de Biología, Facultad de Ciencias del Mar y Ambientales, Instituto Universitario de Investigación Marina, INMAR, Campus de Excelencia Internacional del Mar (CEI-MAR), Universidad de Cádiz, España.

Resumen

Los ensayos de simulación digestiva *in vitro* presentan un amplio rango de aplicaciones en el ámbito de la nutrición de especies acuícolas. Una de las principales aplicaciones es la preselección o *screening* de ingredientes para piensos de acuicultura, con objeto de evaluar tanto su similitud como de simplificar la segunda fase de evaluación *in vivo*. En el presente estudio se ha aplicado un modelo de simulación digestiva en dos especies, la dorada (*Sparus aurata*) y la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*), con objeto de determinar las potenciales diferencias en biodisponibilidad de proteína en concentrados de 4 leguminosas: i) altramuz, ii) guisante, iii) lenteja y iv) judía. Para ambas especies se obtuvo un perfil similar, caracterizado por unos valores de hidrólisis proteica significativamente mejores para los productos de altramuz y guisante frente a los de lenteja y judía. Estos resultados pueden servir de orientación práctica tanto de cara a la selección de ingredientes como para el establecimiento de sus niveles óptimos de inclusión en los piensos para ambas especies.

Introducción

En la actualidad existe una creciente diversidad de ingredientes susceptibles de ser incluidos en los piensos acuícolas. Sin embargo, debido a la dificultad y coste que entraña la adecuada evaluación nutricional de dichos componentes, se hace necesario desarrollar ensayos que simplifiquen el proceso de selección de ingredientes. En este sentido, los ensayos de simulación digestiva *in vitro* han demostrado ser muy útiles para el *screening* preliminar de dichos ingredientes ya que permitan evaluar diferencias en su potencial valor nutritivo bajo condiciones estandarizadas. El Proyecto ALEHOOP (Biorefineries for the valorisation of macroalgal residual biomass and legume processing by-products to obtain new protein value-chains for high-value food and feed applications; H2020-BBI-JTI-2019, proposal n°: 887259, UE) está desarrollando biorrefinerías piloto para recuperar proteínas alimentarias de bajo coste a partir de la biomasa de macroalgas y subproductos de leguminosas generados durante los procesos de secado, molienda, descascarado y clasificación de las semillas. En este sentido, el objetivo del presente trabajo es aplicar un modelo de simulación digestiva en dos especies, la dorada (*Sparus aurata*) y la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*), con objeto de evaluar las potenciales diferencias en biodisponibilidad de proteína en subproductos obtenidos a partir de 4 leguminosas: altramuz, guisante, lenteja y judía.

Material y Métodos

Los productos evaluados eran concentrados con contenidos proteicos entre el 60 y el 76 % (Tabla 1). De cara a los ensayos se consideró un porcentaje máximo de inclusión de harina vegetal del 40 % sobre el pienso lo que representaba cantidades de unos 200 mg de harina/test. Se realizaron ensayos *in vitro* que involucraban las fases estomacal e intestinal de la digestión en dos especies, dorada (*Sparus aurata*) y trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*), utilizando extractos enzimáticos obtenidos a partir de digestivos de juveniles de ambas especies. Los ensayos se llevaron a cabo con biorreactores de membrana semipermeable (Gillanjed et al, 2018), los cuales permiten la retirada constante de los productos de hidrólisis generados durante la hidrólisis de los sustratos minimizando las interferencias entre sí. Las condiciones empleadas se basaron en los rasgos de la fisiología digestiva de ambas especies (tipo y cantidad de enzimas, pH, duración de la digestión, etc) adaptadas para un individuo de 20 g (Tabla 2).

Tabla 1. Análisis proximal de los concentrados vegetales evaluados en el estudio.

	JUDÍA	ALTRAMUZ	GUISANTE	LENTEJA
<i>Proteína bruta</i>	61,0	71,1	76,2	73,0
<i>Grasa</i>	7,3	18,0	7,5	3,3
<i>Carbohidratos</i>	25,3	3,9	7,5	13,7
<i>Azúcares</i>	2,5	1,0	2,3	2,3
<i>Cenizas</i>	3,6	2,3	3,9	4,3

Tabla 2. Condiciones generales utilizadas para los ensayos *in vitro* de las harinas de leguminosa en ambas especies.

	<i>S. aurata</i>	<i>O. mykiss</i>
Peso(g)	20	20
Proteasa ácida (U/pez)	304	580
Proteasa alcalina (U/pez)	3,430	2,875
pH estómago	4,5	4,0
pH intestino	8,2	8,0
Tiempo total digestion ácida (h)	1,5	1,5
Tiempo total digestion alcalina (h)	3,0	4,5
Temperatura (°C)	25	25

Resultados y Discusión

Los resultados de los ensayos de hidrólisis expresados como liberación de aminoácidos a partir de proteína se muestran en la Tabla 3. Ambas especies mostraron similitud en la cantidad promedio de aminoácidos liberados a partir de los distintos ingredientes, pero se evidenciaron diferencias significativas entre los ingredientes testados, con valores claramente superiores para los concentrados de altramuz y guisante, intermedios para el de lenteja y significativamente peores para el de judía, con valores que representaban en torno al 50% de los medidos con los primeros. Estas diferencias ponen de manifiesto que, incluso en productos aparentemente muy similares en cuanto al origen y composición, la acción de las enzimas digestivas puede verse muy condicionada por elementos presentes en la matriz del ingrediente que limitan su efectividad. En este caso, el contenido claramente mayor de carbohidratos fibrosos presentes en los concentrados de judía y lenteja frente a los de altramuz y guisante representaron un claro limitante para su hidrólisis a nivel digestivo. Estos resultados podrían ser utilizados no sólo como base para la selección del producto más adecuado sino también para rediseñar un sistema de obtención de algunos de ellos orientado a reducir la proporción de los compuestos que limitan su aprovechamiento digestivo.

Tabla 3. Valores finales de aminoácidos liberados por hidrólisis a partir de los diferentes ingredientes, expresados tanto en mg totales como en relación a 100 g de PB, en condiciones de simulación digestiva para ambas especies.

FACTORES	Aminoácidos (mg)		Aminoácidos (% PB)	
	F ratio	P value	F ratio	P value
INGREDIENTE	85.47	0.0000	53.36	0.0000
ESPECIE	0.09	0.7669	2.60	0.1186
INGREDIENTE				
Judía	27.16 ± 1.58 a		8.87 ± 0.46 a	
Lenteja	41.53 ± 1.58 b		12.00 ± 0.46 b	
Guisante	56.79 ± 1.58 c		16.25 ± 0.46 c	
Altramuz	58.13 ± 1.58 c		15.87 ± 0.46 c	
ESPECIE				
Dorada	45.67 ± 1.11		12.87 ± 0.33	
Trucha arcoiris	46.14 ± 1.11		13.62 ± 0.33	

Bibliografía

N. Gilannejad; G. Martínez-Rodríguez; M. Yúfera; F.J. Moyano. 2018. *Modelling digestive hydrolysis of nutrients in fish using factorial designs and desirability function*. PLoS One. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0206556>

Agradecimientos

Este trabajo ha sido subvencionado por Proyecto ALEHOOP (Biorefineries for the valorisation of macroalgal residual biomass and legume processing by-products to obtain new protein value-chains for high-value food and feed applications; H2020-BBI-JTI-2019, proposal n°: 887259, UE).