



## ACTIVIDAD ENZIMÁTICA TRIPSINA PANCREÁTICA EN POLLOS DE CEBA QUE CONSUMEN HARINA DE PALMICHE PANCREATIC TRYPsin ENZYMATIC ACTIVITY IN BROILERS WHICH INTAKE ROYAL PALM NUT MEAL

MADELEIDY MARTÍNEZ-PÉREZ\*, YESENIA VIVES HERNÁNDEZ,  
MARYEN ALBERTO VÁZQUEZ, SUSAN K. HERNÁNDEZ LEMUS

*Instituto de Ciencia Animal, C. Central, km 47½, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba*

\*Email: [madeleidymartinez@gmail.com](mailto:madeleidymartinez@gmail.com)

Para estudiar la actividad enzimática de la tripsina pancreática en pollos de ceba que consumen harina de palmiche, se utilizaron 40 animales (HE<sub>21</sub>), distribuidos en un diseño completamente aleatorizado. Se diseñaron cuatro tratamientos: control e inclusión de 5, 10 y 15 % de harina de palmiche. Los animales se sacrificaron a los 42 días y se extrajeron los páncreas, se pesaron y expresaron como relativos al peso vivo y se determinó la actividad enzimática de la tripsina, que aumentó con la inclusión de 5 y 10 % respecto al control y 15 % (5744.50 y 5131.50 vs 2415.67 y 1540.67 mg de tirosina liberada. min<sup>-1</sup>. mg<sup>-1</sup> de proteína, respectivamente). Se concluye que la inclusión de hasta 10 % de harina de palmiche en la dieta de pollos de ceba aumenta la actividad de la enzima tripsina pancreática para digerir las proteínas en el tracto gastrointestinal.

To study the pancreatic trypsin enzymatic activity in broilers which intake royal palm nut meal, a total of 40 animals (HE<sub>21</sub>) distributed in a completely random design were used. Four treatments were designed: control and inclusion of 5, 10 and 15 % royal palm nut meal. The animals were weighed and sacrificed at 42 days and the pancreas were extracted, they were weighed and expressed relative to live weight and the trypsin enzymatic activity was determined, which increased with the inclusion of 5 and 10 % compared to the control and 15 % (5744.50 and 5131.50 vs 2415.67 and 1540.67 mg of released tyrosine. min<sup>-1</sup>. mg<sup>-1</sup> of protein, respectively). It is concluded that the inclusion of royal palm nut meal up to 10 % in broilers diets increase the pancreatic trypsin enzymatic activity to digest proteins in the gastrointestinal tract.

**Palabras clave:** aves, enzima digestiva, fruto de la palma real

**Key words:** birds, digestive enzyme, royal palm fruit

Uno de los órganos centrales del tracto gastrointestinal es el páncreas. Este desempeña una función activa en la regulación del sistema digestivo, ya que secreta enzimas que hidrolizan a proteínas, lípidos y carbohidratos provenientes del alimento (Kuzmina *et al.* 2024). Con respecto a la cría de aves de corral, en la literatura científica se informan investigaciones que permiten demostrar la adaptación de las glándulas digestivas de los animales a la composición química de los alimentos (Vertiprakhov *et al.* 2023).

En estudios realizados por Martínez-Pérez *et al.* (2021), donde se incluyó harina de palmiche en la alimentación de pollos de ceba, se demostró que la fracción proteica de este fruto se considera relativamente baja (8.77 %) y que los niveles de extracto etéreo son elevados (16.06 %). Vertiprakhov *et al.* (2020), al analizar diferentes fuentes de

aceites vegetales en gallinas ponedoras, observaron que la función exocrina del páncreas se modifica según la fuente en estudio. El objetivo de este trabajo fue estudiar la actividad enzimática de tripsina pancreática en pollos de ceba que consumen harina de palmiche.

Se utilizaron 40 pollos de ceba machos del híbrido HE<sub>21</sub>, con peso vivo inicial promedio de 141±5 g. Se alojaron en jaulas metálicas desde los 8 hasta los 42 d de edad. Las dietas experimentales consistieron en: control (maíz-torta de soya) y la inclusión de 5, 10 y 15 % de harina de palmiche, de manera que se mantuvieron isoproteicas e isoenergéticas. La formulación se realizó para las etapas de inicio, crecimiento y acabado y se informaron por Vives *et al.* (2020). Durante todo el tiempo de experimentación, los pollos tuvieron libre acceso al agua y al alimento.

Recibido: 02 de julio de 2024

Aceptado: 15 de diciembre de 2024

**Conflicto de intereses:** Los autores declaran que no existe conflicto de intereses entre ellos.

**Declaración de contribución de autoría CRediT:** Madeleidy Martínez-Pérez: **Conceptualización, Investigación, Visualización, Redacción- borrador original.** Yesenia Vives Hernández: **Investigación, Análisis formal, Redacción- borrador original.** Maryen Alberto Vázquez: **Metodología, Recursos.** Susan Kelly Hernández Lemus: **Investigación**



Este artículo se encuentra bajo los términos de la licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial (CC BY-NC 4.0). <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>



A los 42 d, los pollos se pesaron y sacrificaron, exactamente dos horas y treinta minutos después de la ingestión del alimento. Se utilizaron procedimientos tradicionales: insensibilización por aturdimiento con choque eléctrico antes del método de desangrado por punción en la yugular. Posteriormente, se abrió la cavidad abdominal y se extrajeron los páncreas. Se pesaron en balanza técnica (SARTORIUS, Alemania) y se expresaron como relativos al peso vivo ( $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  de PV). Luego, se sumergieron en 4  $\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$  de solución salina fisiológica, entre 0 y 4 °C, para su traslado al laboratorio. Los órganos de tres animales por tratamiento, que constituyeron una muestra, se homogeneizaron manualmente y se centrifugaron a 1500 r.p.m. durante 10 min a 4 °C en una centrifuga refrigerada marca Thermoscientific IEC CL31R (China). Se descartó el pélet y se almacenó el sobrenadante en pequeñas alícuotas a -80 °C hasta posteriores análisis.

La concentración de proteínas se determinó mediante el método de Bradford (1976) en un espectrofotómetro UV-vis (Rigol serie Ultra-3400, China). El cálculo de las concentraciones se realizó mediante la interpolación de los valores de absorbancia de las muestras en la curva patrón de seroalbúmina bovina (BSA) (0.01-5 mg/mL). Esta se normalizó para todos los homogenizados en estudio a 3 mg/mL, para lo que se realizaron las diluciones correspondientes en cada caso. Todos los análisis se realizaron por triplicado.

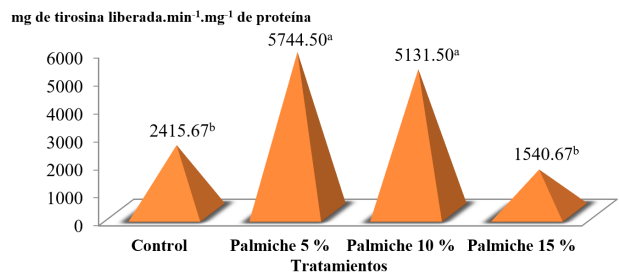
La actividad de la tripsina se determinó en el homogenizado de páncreas, según la técnica descrita por León et al. (2007). El mismo (0.3 mg de proteína) se incubó durante 15 min a 41 °C con 200  $\mu\text{L}$  del sustrato caseína al 1 % en tampón fosfato de sodio 100 mM pH 7.4. La reacción se detuvo con la adición de 1 mL de ácido tricloroacético al 5 % p/v y la mezcla se filtró mediante papel Whatman 42. Se hicieron reaccionar 250  $\mu\text{L}$  del filtrado con 1 250  $\mu\text{L}$  de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  200 mM y 250  $\mu\text{L}$  del reactivo de Folin-Ciocalteu, diluido 1:5 en agua destilada. Después de la incubación, durante 20 min a 41 °C, se midió la absorbancia a longitud de onda de 625 nm. Los valores se compararon con los de una curva estándar, elaborada a partir de una solución de tirosina (1 mg/mL). La actividad específica de la tripsina se expresó como mg de tirosina liberada  $\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}$  de proteína.

Se utilizó diseño completamente aleatorizado, con cuatro tratamientos. Para los pesos vivo final y relativo del páncreas, se utilizaron 10 repeticiones de un animal y para la actividad enzimática de la tripsina pancreática, tres repeticiones, que

correspondieron a una muestra de tres páncreas cada una. Las diferencias entre las medias se determinaron según Duncan (1955) para  $p < 0.05$  en los casos necesarios. Se utilizó el paquete estadístico Infostat (Di Rienzo et al. 2012).

No se encontraron diferencias en los pesos vivo final y los relativos del páncreas entre los cuatro tratamientos (tabla 1). Similar comportamiento registraron Vives et al. (2021), al estudiar la glándula accesoria en pollos de ceba. Estos autores plantearon además, que aunque macroscópicamente no se observaron cambios morfológicos, hubo incremento de sus funciones específicas, ante la presencia de harina de palmiche en la ración, lo que favorece el proceso de digestión.

Los tratamientos con la inclusión de 5 y 10 % de harina de palmiche no difirieron entre sí, y mostraron actividad enzimática mayor de la tripsina pancreática con respecto al resto (figura 1). El incremento representa un beneficio fisiológico para el animal, ya que según Vertiprakhov et al. (2023) esta enzima rompe los enlaces de las proteínas mediante hidrólisis para formar péptidos o aminoácidos de menor tamaño, más fácilmente digeribles y biodisponibles. De esta manera, aumenta la digestión de estas biomoléculas, que desempeñan funciones biológicas esenciales en el organismo: estructural, enzimática, hormonal, reguladora, homeostática, entre otras.



<sup>a,b</sup> Valores con distintas letras muestran diferencias significativas ( $p < 0.05$ )

**Figura 1.** Actividad enzimática de la tripsina pancreática en pollos de ceba que consumen diferentes niveles de harina de palmiche en la ración.  $EE \pm 0.8758$ ,  $p = 0.0014$ .

La reducción de la actividad enzimática del 15 % respecto al resto de los tratamientos que incluyen la harina de palmiche se puede relacionar con la alta correlación que demostraron Martínez-Pérez et al. (2021) entre los contenidos de grasa y fibra (86 %) que aporta el palmiche con este nivel en la dieta.

**Tabla 1.** Pesos vivo final y relativos del páncreas de pollos de ceba, que consumen harina de palmiche en la ración

Pesos	Inclusión de harina de palmiche, %				EE $\pm$	p-valor
	Control	5	10	15		
Vivo final (kg)	2.24	2.36	2.34	2.15	0.15	0.7506
Páncreas ( $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ de PV)	2.93	2.58	2.50	2.45	0.21	0.3910

Según Liu *et al.* (2017) los lípidos tienen mayor impacto en el consumo de alimento, que el almidón y las proteínas, y que las concentraciones de estas últimas, se diluyen mediante la inclusión de lípidos adicionales en el extracto etéreo de dietas isoenergéticas. Vertiprakhov *et al.* (2020) plantearon que ante concentraciones fisiológicas elevadas de grasa, se observa un incremento selectivo de la lipasa con disminución global del resto de la secreción enzimática. Este resultado concuerda con lo expresado por Vives *et al.* (2020), quienes observaron mayor actividad enzimática de la lipasa pancreática para 15 % de inclusión de harina de palmiche en la ración de pollos de ceba.

Se han descrito efectos inhibidores de la secreción pancreática exocrina por parte de nutrientes, sales biliares, algunas hormonas gastrointestinales e inhibidores de tripsina (Kuzmina *et al.* 2024). Según Singh y Kim (2021), la fibra aumenta la excreción de sales biliares, que son las encargadas de la emulsificación de los lípidos para que ocurra su digestión. Por lo tanto, este comportamiento también pudiera estar asociado a efectos inhibidores por parte de la fracción fibrosa del palmiche. Pudiera ser que con 15 % de harina de palmiche en la dieta aumentarían las concentraciones de inhibidores de tripsina, los que reducirían la actividad de la tripsina. Se necesita confirmar esta hipótesis con estudios posteriores.

Se concluye que la inclusión de hasta 10 % de harina de palmiche en la dieta de pollos de ceba aumenta la actividad de la enzima tripsina pancreática en el tracto gastrointestinal.

### Referencias

- Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1-2): 248-254, ISSN: 0003-2697. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3).
- Di Rienzo, J.A., Casanoves, F., Balzarini, M.G., González, L., Tablada, M. & Robledo, C.W. 2012. InfoStat. Versión 2012, [Windows], Universidad Nacional de Córdoba, Argentina: Grupo InfoStat. Available: <http://www.infostat.com.ar>.
- Duncan, D.B. 1955. Multiple range and multiple F tests. *Biometrics*, 11(1): 1-42, ISSN: 0006-341X. <https://doi.org/10.2307/3001478>.
- Kuzmina, I.V., Tolpygo, S.M., Kotov, A.V., Shoibonov, B.B. & Zamolodchikova, T.S. 2024. Basal pancreatic secretion in a comparative aspect in poultry and rodents. *Frontiers in Physiology*, 15: 1340130, ISSN: 1664-042X. <https://doi.org/10.3389/fphys.2024.1340130>.
- León, M., Rueda, E., Castañeda, M., Méndez, A. & Michelangeli, C. 2007. Efecto de la concanavalina A sobre la actividad de las enzimas  $\alpha$ -amilasa y tripsina en pollos de engorde. *Revista Científica FCV-LUZ*, 17(1): 83-88, ISSN: 2521-9715. <https://produccioncientificaluz.org/index.php/cientifica/article/view/15261/15236>.
- Liu, S.Y., Selle, P.H., Raubenheimer, D., Gous, R.M., Chrystal, P.V., Cadogan, D.J., Simpson, S.J. & Cowieson, A.J. 2017. Growth performance, nutrient utilisation and carcass composition respond to dietary protein concentrations in broiler chickens but responses are modified by dietary lipid levels. *British Journal of Nutrition*, 118 (4): 250-262, ISSN: 1475-2662. <https://doi.org/10.1017/S0007114517002070>.
- Martínez-Pérez, M., Vives, Y. & Pérez-Acosta, O. 2021. Nutritional value of palm kernel meal, fruit of the royal palm tree (*Roystonea regia*), for feeding broilers. *Cuban Journal of Agricultural Science*, 55(3): 305-313, ISSN: 2079-3480. <https://www.cjascience.com/index.php/CJAS/article/view/1026/1339>.
- Singh, A.K. & Kim, W.K. 2021. Effects of dietary fiber on nutrients utilization and gut health of poultry: A review of challenges and opportunities. *Animals*, 11(1): 1-18, ISSN: 2076-2615. <https://doi.org/10.3390/ani11010181>.
- Vertiprakhov, V.G., Grozina, A.A., Fisinin, V.I. 2020. The exocrine pancreatic function in chicken (*Gallus gallus* L.) fed diets supplemented with different vegetable oils. *Agricultural Biology*, 55(4): 726-737, ISSN: 2412-0324. <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2020.4.726eng>.
- Vertiprakhov, V.G., Trukhachev, V.I. & Ovchinnikova, N.V. 2023. Trypsin cycling in poultry is associated with metabolic regulation. *Frontiers in Physiology*, 14: 1226546, ISSN: 1664-042X. <https://doi.org/10.3389/fphys.2023.1226546>.
- Vives, Y., Martínez-Pérez, M., Alberto, M. & Hernández, Y. 2020. Pancreatic lipase enzymatic activity in broilers fed with *Roystonea regia* fruit meal included in the ration. Technical note. *Cuban Journal of Agricultural Science*, 54(1): 101-105, ISSN: 2079-3480. <https://www.cjascience.com/index.php/CJAS/article/view/940/1021>.
- Vives, Y., Martínez-Pérez, M. & Hernández, Y. 2021. Morphometric indicators of broilers fed *Roystonea regia* fruit meal in the ration. Technical note. *Cuban Journal of Agricultural Science*, 55(2): 181-184, ISSN: 2079-3480. <http://www.cjascience.com/index.php/CJAS/article/view/1019/1327>.