



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

**MAESTRIA EN CIENCIAS DE LA  
PRODUCCIÓN Y DE LA SALUD ANIMAL**

**“CARACTERIZACIÓN DEL NITRÓGENO  
ENDÓGENO PRESENTE EN EL CONTENIDO ILEAL DE  
LECHONES RECIÉN DESTETADOS”**

**T E S I S**

**PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS**

**P R E S E N T A**

**ADRIANA ALEJANDRA HERNÁNDEZ DELGADO**

**TUTOR: TERCIA CESÁRIA REIS DE SOUZA**

**COMITÉ TUTORAL:**

**GERMÁN BORBOLLA SOSA**

**GERARDO MARISCAL LANDÍN**

**QUERÉTARO, QRO.**

**2006**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## **DEDICATORIAS**

Este trabajo de tesis quisiera dedicarlo a todas aquellas personas que influyeron para que se pudiera finalizar, espero incluirlos a todos:

A Dios que me dio la vida y la oportunidad de hacer esta tesis le dedico este trabajo.

Con todo mi amor para mi familia que son parte de mi corazón y que han contribuido muchísimo en la realización de esta investigación: Mamá, Papá, Chely, Dulce, Fer, Royito, Paola, Donají, Rodrigo, Samuel, Rogelio, Faby, Manuel y una dedicatoria muy especial a Rubén, este trabajo es de ustedes, los amo.

A mi asesora por su infinita paciencia y por siempre guiarme para bien.

A todas las personas que laboran en el laboratorio por su infinito apoyo (MC Araceli, Guillermo Cervantes, Mariela).

## **AGRADECIMIENTOS**

A todos los profesores de la maestría por compartir conmigo sus conocimientos.

A la Dra. Tércia y a mi comité tutorial por guiarme en la realización de este trabajo.

A QFB Guillermo Cervantes, MC Araceli Aguilera y MC Mariela, gracias por su apoyo para la realización de las pruebas experimentales.

Sin duda no terminaría de listar a las personas que me han brindado su apoyo y quiero agradecerles a todos ellos, sin embargo quiero expresar mi agradecimiento a todos mis compañeros de maestría, especialmente a: Arlette, Demián, Juan, Mario Avalos, Mario Espinosa, Eliab, Víctor Robledo, Lacho, Laurita, Eduardo y Marina darles las gracias por su ayuda en la realización de este trabajo y por su compañerismo y amistad que han tenido conmigo.

Josué, Mimi y Natalia muchas gracias por su amistad y por todo el apoyo.

A mi familia que en todo momento me ha brindado su amor y confianza.

Rubén, gracias por todo tu empeño, amor, trabajo y tiempo que has puesto junto conmigo en este trabajo, te amo mi amor.

## CONTENIDO

Dedicatorias

Agradecimientos

Resumen

Abstract

Contenido

Lista de cuadros

Lista de figuras

1. Introducción.

2. Revisión de literatura.

Definición e importancia del nitrógeno endógeno.

Fuentes de nitrógeno endógeno.

Factores que alteran el flujo de nitrógeno (N) endógeno.

Métodos para la determinación de N endógeno.

3. Material y métodos.

Cálculos.

Análisis estadístico.

4. Resultados.

Flujo de N endógeno y pérdidas basales.

Coefficiente de digestibilidad ileal aparente.

Coefficiente de digestibilidad ileal verdadera.

5. Discusión.

Flujo de N endógeno y pérdidas basales.

Coefficiente de digestibilidad ileal aparente.

Coefficiente de digestibilidad ileal verdadera.

6. Conclusiones.

7. Referencias.

## LISTA DE CUADROS

	<b>Página</b>
Cuadro 1. Contenido de DAPA y N bacteriano en el contenido ileal de cerdos alimentados con diferentes niveles de inclusión de fibra.	14
Cuadro 2. Pérdidas endógenas de N utilizando diferentes fuentes de proteína.	15
Cuadro 3. Concentración de aminoácidos y N en la proteína endógena basal (g/Kg MSI), según diferentes autores.	22
Cuadro 4. Composición de las dietas experimentales.	24
Cuadro 5. Perfil de aminoácidos de las dietas experimentales.	25
Cuadro 6. Flujo de N y aminoácidos a nivel ileal en lechones destetados alimentados con niveles crecientes de caseína (g/Kg MSI).	31
Cuadro 7. Pérdidas basales (g/Kg MSI) y CDIV de N y aminoácidos obtenidos por el método de regresión.	34
Cuadro 8. Digestibilidad ileal aparente de N y aminoácidos de lechones destetados alimentados con niveles crecientes de caseína.	35

## LISTA DE FIGURAS

	<b>Página</b>
Figura 1. Representación esquemática de la utilización de aminoácidos en cerdos en crecimiento.	5
Figura 2. Sustrato de las enzimas pancreáticas.	8
Figura 3. Estructura microscópica de la mucosa intestinal.	11
Figura 4. Estructura de la cadena de péptido glicano.	13
Figura 5. Comparación entre la estructura química del DAPA y la lisina.	14
Figura 6. Cronología de actividades realizadas durante la parte experimental.	26

## RESUMEN

Para determinar el coeficiente de digestibilidad ileal verdadera (CDIv) es necesario cuantificar el nitrógeno endógeno (NE). Los objetivos del presente trabajo fueron cuantificar el flujo total (FT) y basal (FB), el coeficiente de digestibilidad ileal aparente y verdadero (CDIa y CDIv) del nitrógeno (N) y aminoácidos provenientes de caseína en lechones recién destetados. En el estudio se utilizaron 18 lechones destetados a los  $17 \pm 1$  días de edad con peso promedio de  $6.0 \pm 1.0$  kg. Al día 21 se les colocó una cánula T en el ileon distal. Las tres dietas utilizadas fueron formuladas con niveles crecientes de proteína (10.5, 16.2 y 24.7%), utilizando como única fuente de N a la caseína. Las muestras se colectaron a los 10 días posteriores a las cirugías durante dos días y con períodos de 12 horas cada uno. Las muestras obtenidas se congelaron inmediatamente a  $-20$  °C. Posteriormente se liofilizaron y se molieron para determinarles materia seca, proteína cruda, aminoácidos y cromo. El CDIa y el CDIv así como el FT y el FB de N y aminoácidos endógenos fueron calculados en cada muestra. Tanto en el FT como en el FB los aminoácidos más abundantes fueron el ácido glutámico, 3.247 y 2.178 g/Kg de materia seca ingerida (MSI), la arginina, 1.426 y 1.364 g/Kg MSI y el ácido aspártico, 1.586 y 1.245 g/Kg MSI, respectivamente; aunque los flujos de treonina y serina también fueron elevados. A medida que se incluyó más proteína en la dieta el CDIa se incrementó tanto para el N como para la mayoría de los aminoácidos ( $P < 0.001$ ). El CDIv para el N y los aminoácidos fue mayor a 0.93. Los resultados indican que: (1) el N y los aminoácidos de caseína fueron altamente digestibles y (2) el flujo de aminoácidos fue mayor para los que forman parte de las secreciones digestivas.

## ABSTRACT

In order to determine the true ileal digestibility coefficient (tIDC) we need to quantify the endogenous nitrogen (EN) excreted. The objectives of this experiment were: quantify the total flux (TF), basal flux (BF), tIDC and the apparent ileal digestibility coefficient (aIDC) for nitrogen (N) and amino acids (AAs) from casein in wean piglets. For this experiment eighteen piglets weaned at  $17 \pm 1$  days of age, weighing  $6.0 \pm 1.0$  kg, were used. At day 21 of age, a T canula was surgically fitted in the piglet's distal ileon. Three diets with increasing levels of protein (10.5, 16.2 and 24.7%) were formulated using casein as the only nitrogen source. Ileal samples were collected starting 10 days after surgery, over 2 consecutive days, during two periods of 12 h each. Samples were immediately frozen after collection at  $-20$  C and kept in the freezer until the analysis day. The day of analysis samples were thaw, freeze dried and grinded, to determine dry matter, crude protein, AAs and chromium. Using these values the aIDC, tIDC, TF, and BF for N, and endogen AAs were calculated. The AAs with the greater BF and TF were: glutamic acid (2.178 and 3.247 g/kg dry matter intake DMI respectively), arginine (1.364 and 1.426 g/kg of DMI) and aspartic acid (1.245 and 1.586 g/kg DMI), even when the BF and TF for threonine and serine were elevated too. As protein levels in the diet were increased, the aIDC for N and most of the AAs was increased too ( $P < 0.001$ ). The tIDC for N and AAs was greater than 0.93. These results indicate that: 1) N and AAs from casein were highly digestible. 2) The greater flux of AAs was for those that are component of the digestive secretions.

Key words: Digestibility, casein, piglets, nitrogen.

## **1. INTRODUCCIÓN.**

El destete en los cerdos provoca estrés, el cual es ocasionado por cambios en su medio ambiente y en su entorno social. Aunado a esto hay cambios importantes de origen nutricional, pues con el cambio de alimento líquido a sólido se observan modificaciones en los órganos digestivos (Pluske et al., 1997) y en la producción enzimática (Rantzer et al., 1997); por ejemplo el desarrollo de la mucosa gástrica es mayor después del destete, por otro lado tiene que haber una adaptación enzimática a los nuevos sustratos (Pluske et al., 1997; Reis y Mariscal; 1997). Por lo tanto en esta fase ocurre una reducción en la capacidad digestiva (Pluske et al., 1997).

Para poder determinar si la proteína dietaria está siendo absorbida satisfactoriamente se realizan estudios de digestibilidad, haciendo una diferenciación entre la proteína ingerida y la excretada, ya sea a nivel ileal o fecal (Darragh y Hodgkinson, 2000). Esta cuantificación solo estima la absorción aparente, pues no todo el nitrógeno (N) excretado es de origen alimenticio, ya que el contenido ileal o fecal está formado por una mezcla de nitrógeno que proviene de la dieta y otra parte que es secretada a lo largo del aparato digestivo, así como el N que aportan las bacterias. Cuando se hace una corrección, restando al cálculo de digestibilidad aparente el N endógeno, se puede estimar la digestibilidad verdadera del N (Leterme, 2001; Souffrant et al., 1993).

El N endógeno se define como el N presente en contenido ileal o heces que no es de origen alimenticio (Leterme, 2001). Esta fracción proteica proviene de las diferentes secreciones del tubo digestivo: salival, gástricas, intestinales, pancreáticas y biliares, así como de la descamación celular, moco y microorganismos (Jansman et al., 2002). Más del 50% del N endógeno presente en ileón terminal es aportado por el intestino delgado (Low, 1985). Es importante mencionar que la cantidad de N endógeno puede incrementarse, o bien su reabsorción puede estar disminuida por los componentes de la dieta como son: fibra (Bayardo, 2000), factores antitripsicos (Caine et al., 1998), la misma fuente de proteína dietaria (Grala et al., 1998; Makkink et al., 1997), lectinas y taninos. La recuperación del N endógeno es aproximadamente de 88% (Souffrant et al., 1993) y el restante es lo que aparece en contenido ileal y heces, pudiendo variar por los factores antes mencionados.

Para conocer la variación que existe en cuanto a la digestión y absorción del N cuando se utilizan diferentes fuentes de proteína en la dieta, es importante saber la cantidad del N endógeno que es aportado, por cada una de las secreciones del aparato digestivo.

Mediante la utilización de una fuente de proteína altamente digestible (Jansman et al., 2002) se puede determinar la pérdida endógena basal de N, que es la presencia de N en contenido ileal o heces que es excretado debido a las funciones normales del aparato digestivo del cerdo.

En el presente trabajo se utilizó como fuente de proteína a la caseína, la cual es altamente digestible (99%), por lo que se asume que no induce alguna secreción específica de N, y que la cantidad de N endógeno presente en el contenido ileal es de origen basal. Además se tiene una condición fisiológica más real en el aparato digestivo del cerdo en comparación con el método de dieta libre de proteína (Jansman et al., 2002). Los objetivos del presente trabajo fueron el de determinar la cantidad de N endógeno total y basal a nivel ileal en lechones recién destetados, pues la mayor información científica sobre la secreción de N endógeno es generada en animales en crecimiento.

## 2.- REVISIÓN DE LITERATURA.

### 2.1. Definición e importancia del N endógeno.

Dentro del contenido ileal y las heces se pueden encontrar proteínas secretadas por animal y de origen bacteriano (endógenas): las enzimas digestivas compuestas únicamente por aminoácidos; las sales biliares, contienen los aminoácidos taurina y glicina conjugados con los ácidos biliares cólico y quenodesoxicólico; el moco está constituido por glucoproteínas (mucina) de alto peso molecular las cuales son ricas en los aminoácidos treonina y serina (Ganong, 2002); las membranas celulares constan principalmente de lípidos y proteínas que varían en cantidad según su función, en promedio las proteínas constituyen el 50% de la masa de la membrana (Ganong, 2002); en las paredes bacterianas se incluyen algunos aminoácidos, entre ellos lisina y el ácido diaminopimérico (DAPA) (Madigan et al., 2004). Además de la proteína endógena, existe en el contenido ileal la proteína no digerida del alimento (exógena). Se considera como pérdida endógena aquella proteína proveniente del animal que escapa de ileon y llega a intestino grueso, pues en esta última porción no hay absorción de aminoácidos (Leterme, 2001). Las pérdidas endógenas de N se pueden clasificar en dos categorías:

\* **pérdidas basales:** éstas son pérdidas naturales e inevitables para el organismo y se encuentran asociadas con el funcionamiento normal del aparato digestivo de los animales, por lo que tienen que estar presentes en las secreciones digestivas a pesar de la composición de la dieta (Jansman et al., 2002; Leterme, 2001). Las pérdidas basales se determinan con el empleo de la técnica de dieta libre de N o por una dieta con una fuente de proteína altamente digestible (caseína ó gluten de maíz) (Hess y Séve, 1999; Jansman, 2002; Leterme, 2001). De manera general se considera que las pérdidas endógenas basales son una proporción del consumo de materia seca, razón por la cual, estas son expresadas en gramos por kilogramo de materia seca ingerida (g/Kg MSI) (Hess y Séve, 1999).

\* **pérdidas específicas:** están en función de los factores del alimento consumido, que pueden incrementar la secreción y la descamación celular, así como impedir su reabsorción (nutrientes, factores antinutricionales, fibra) (Leterme, 2001), por lo que son el resultado de la interacción de los constituyentes dietarios y el intestino. La diferencia entre las pérdidas totales de N y las basales da como resultado las pérdidas específicas provocadas por el alimento consumido (Montagne et al., 2001).

Partiendo del principio de que la digestibilidad de un nutrimento es una medida indirecta de su absorción, el valor del coeficiente de digestibilidad aparente (CDa) representa la cantidad de nutrimento que se presume fue absorbido; mientras que los nutrimentos excretados componen la fracción indigestible del alimento. Sin embargo, como se mencionó, en el contenido ileal que llega a intestino grueso o en las heces existen nutrimentos de origen endógeno. Así, al conocer la cantidad de N endógeno y al hacer la corrección se puede estimar el coeficiente de digestibilidad verdadera (CDv) ileal o fecal (Cervantes et al., 2000; Darragh y Hodgkinson, 2000), que es una medida más recomendable en el caso de la digestibilidad de la proteína y aminoácidos (Figura 1) (Cervantes et al., 2000). Además al no corregir las pérdidas endógenas se está subestimando la digestibilidad (Grala et al., 1997).

## **2.2. Fuentes de N endógeno.**

### **2.2.1 Secreción digestiva.**

Los jugos digestivos desempeñan un papel esencial dentro de los procesos que se llevan a cabo a lo largo del tracto gastrointestinal y tienen múltiples funciones: proteger los órganos (moco, saliva), permitir la digestión de los ingredientes (enzimas, HCl), amortiguar el pH (saliva, jugo pancreático) y facilitar la digestión de grasa (jugo biliar) (Ganong, 2002). Las secreciones digestivas en

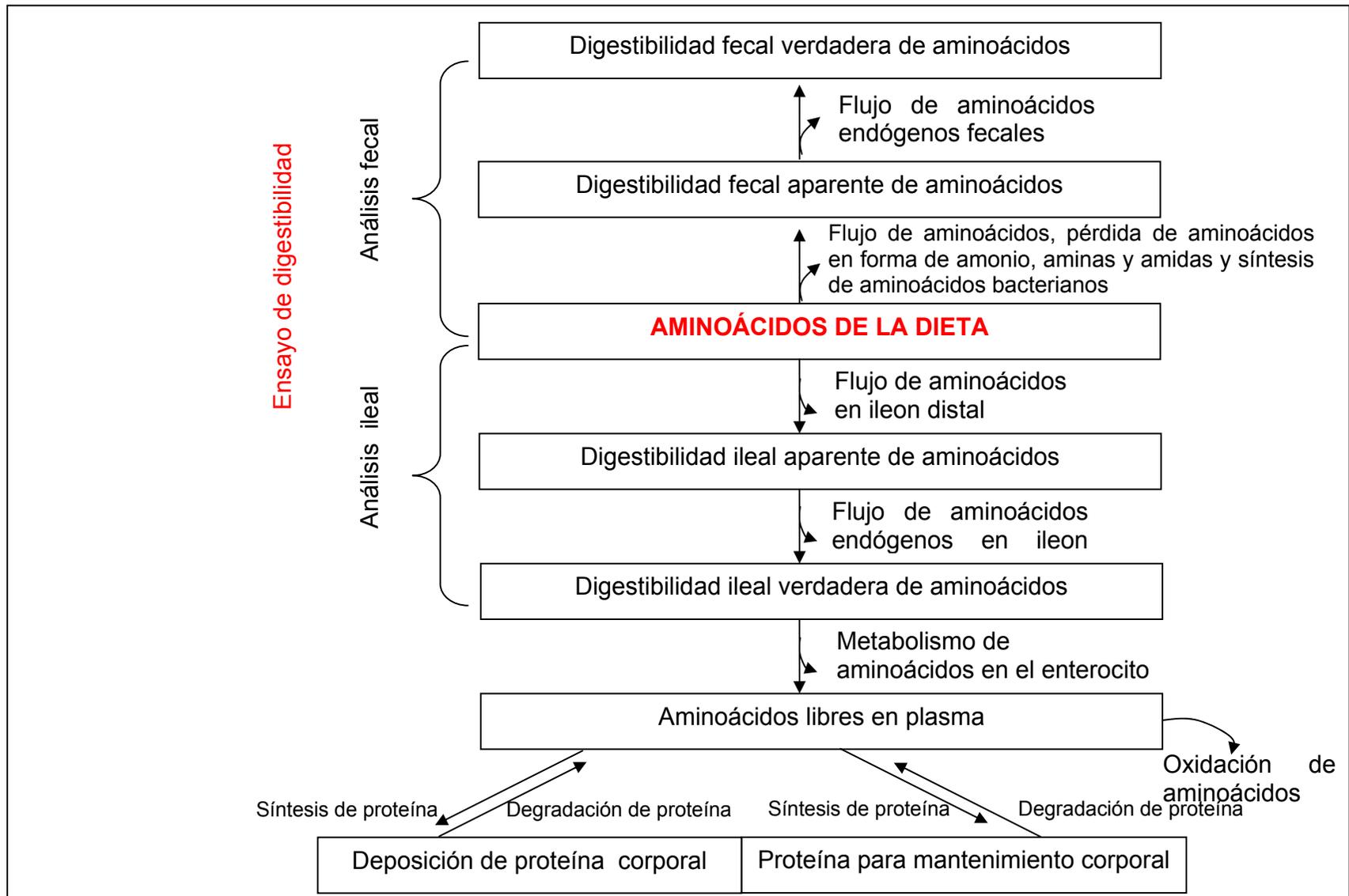


Figura 1. Representación esquemática de la utilización de aminoácidos en cerdos en crecimiento (Sauer et al., 2000).

su mayoría son formadas y liberadas como respuesta a la presencia del alimento, es por ello que algunos de los componentes de estas secreciones varían de acuerdo con el tipo de ingredientes que se estén suministrando en la dieta (Guyton y Hall, 2003).

El aparato digestivo tiene una alta actividad secretora, las secreciones se originan de diferentes lugares: secreciones salival, gástrica, pancreática, biliar e intestinal, dentro de estos componentes la cantidad de N puede variar (Jansman et al., 2002; Leterme, 2001) y es reabsorbido en un 70 a 80% aproximadamente antes del final del ileon. En animales alimentados con caseína como única fuente de proteína dietaria, Souffrant et al. (1993), determinaron que la reabsorción de N endógeno fue del 87%.

Leterme (2001) encontró que la cantidad de nitrógeno en gramos por día, que aportan las secreciones dentro de aparato digestivo son las siguientes: saliva, 0.2; estómago, 2 - 3.3; secreción pancreática, 2.5 - 6.7; bilis, 1.8 - 3 y secreción intestinal, mayor a 14. En estos resultados se puede observar que la secreción intestinal aporta casi el 50% del N endógeno; siendo mucho menor el flujo de las demás secreciones; lo que confirma la gran actividad secretora que se lleva a cabo en el intestino (Moughan et al., 1992; Leterme, 2001), por su parte Low (1985), estimó que más del 50% de las pérdidas endógenas provienen del intestino delgado. De 6 a 8 g de la secreción intestinal mencionada anteriormente se originan de la descomposición celular (Leterme, 2001).

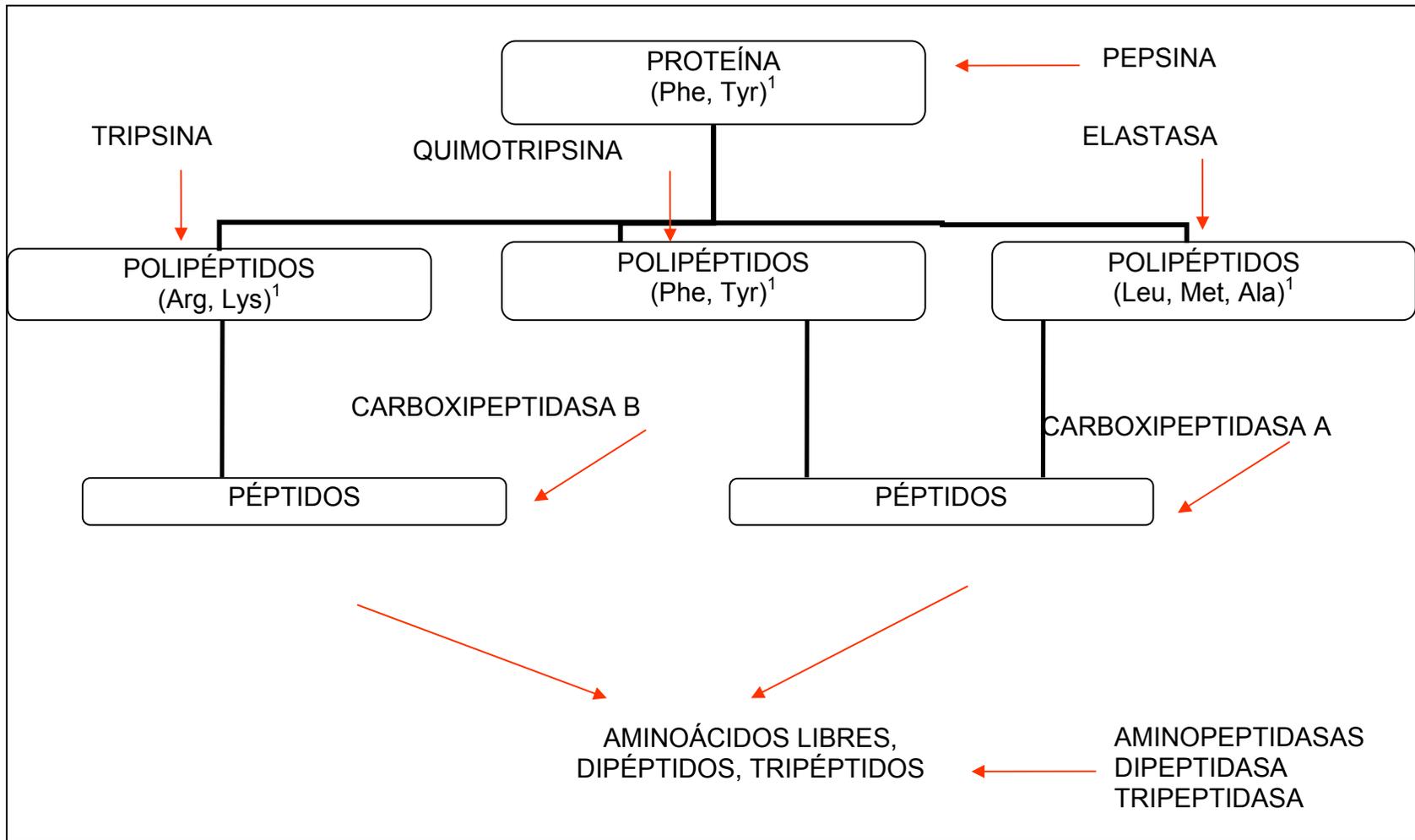
**Enzimas digestivas.** Las enzimas digestivas son secretadas en la mucosa gástrica, el páncreas y la mucosa intestinal (Church y Pond, 1988).

En las células principales de la mucosa gástrica se secreta la pepsina, la cual es liberada en forma de precursor inactivo (pepsinógeno) que, al tener contacto con el pH ácido del medio, se convierte a su forma activa (Costanzo,

1998). La pepsina rompe enlaces en los que se encuentran los aminoácidos fenilalanina, tirosina y triptófano (Church y Pond, 1988). Las enzimas proteolíticas provenientes del páncreas son la tripsina, la quimotripsina, la elastasa y la carboxipeptidasa, las cuales son secretadas en forma inactiva. La tripsina es la primera en activarse gracias a una enzima llamada enterocinasa que se encuentra en el borde de cepillo, una vez que la tripsina ha sido activada, esta rompe enlaces de las demás enzimas convirtiéndolas a su forma catalítica (Costanzo, 1998). En la Figura 2 se puede observar como se lleva a cabo la digestión de las proteínas y en que lugar actúan cada una de las proteasas pancreáticas. Para finalizar la digestión de las proteínas, las aminopeptidasas que se encuentran localizadas en el borde de cepillo y en el citosol de los enterocitos del intestino delgado son responsables de la hidrólisis de dipéptidos y tripéptidos en aminoácidos libres (Hedemann et al., 2003).

Para llevar a cabo la digestión de los carbohidratos, el páncreas secreta la amilasa, la cual rompe los enlaces  $\alpha$  1,4 del almidón, siendo los productos finales la maltosa, la maltotriosa,  $\alpha$ -dextrinas limitantes. Las enzimas del borde de cepillo intestinal terminan su digestión gracias a la acción de las enzimas  $\alpha$ -dextrinasa limitante, maltasa, sacarasa, de las cuales el producto final es glucosa (Costanzo, 1998).

La digestión de las grasas es gracias a la enzima lipasa, la cual es secretada por el páncreas y rompe las uniones 1 y 3 de los triglicéridos formando una molécula de monoglicérido y dos moléculas de ácido graso. En la digestión de fosfolípidos actúa la enzima fosfolipasa A, que al igual que la lipasa, es formada en el páncreas (Costanzo, 1998).



<sup>1</sup> La hidrólisis de las enzimas es en los sitios adyacentes a estos aminoácidos.

Figura 2. Sustrato de las enzimas pancreáticas (Gray, 1991).

**Moco.** El moco es una secreción densa que se encuentra compuesta principalmente por agua, electrolitos y por mucina (glucoproteínas) (Faure et al., 2002). La mucina es el mayor componente del moco que cubre la superficie del aparato respiratorio, digestivo y tracto genitourinario (Perez y Hill, 1999).

Entre las funciones que el moco desempeña en el aparato digestivo se encuentran las siguientes: protege el epitelio intestinal de la excoiación o daño químico e incluso de infecciones, adhiere partículas y lubrica (Montagne et al., 2000; Perez y Hill, 1999). El moco se secreta por las células superficiales en el estómago, por las glándulas de Brunner en el duodeno, por las células caliciformes y de Goblet de la mucosa de intestino delgado y grueso (Ganong, 2002).

Las fracciones de la mucina difieren considerablemente en tamaño además la longitud y la secuencia de aminoácidos varían de una mucina a otra. Esta conformada de un 10-20% de proteína (rica en los aminoácidos treonina, prolina y serina) y el resto (80-90%) se conforma de oligosacáridos, principalmente compuestos por N-acetilglucosamina y N-acetilgalactosamina (Faure et al., 2002). Los oligosacáridos protegen a la mucina de la proteólisis por lo que es una proteína pobremente digerida antes de llegar al intestino grueso (Montagne et al., 2000). La deficiencia de treonina puede reducir la producción de mucina, limitando sus funciones (Faure et al., 2005).

El moco se esta renovando constantemente, por lo que se requiere de una secreción permanente de mucina desde la células especializadas. Existe un incremento de mucina en la luz intestinal cuando hay proteólisis y abrasión. Los componentes de la dieta como los factores antinutricionales y la fibra, deben interactuar con la mucosa y estimular el incremento de mucina en la luz intestinal, las proteínas de la leche no tienen este efecto (Montagne et al., 2000). La proteína

que proviene de la mucina representa el 19% de las pérdidas de PC en ileon en becerros pre-rumiantes (Montagne et al., 2000). Piel et al. (2004) reportan que la cantidad de mucina en lechones recién destetados fue de 3.9 g/kg MSI, consumiendo como fuente proteica a la caseína.

La concentración de mucina incrementa en la porción distal del intestino delgado (Montagne et al., 2000). La cantidad de mucina que se secreta en forma basal en becerros es de 1.06, 1.8 y 4.0 g/Kg MSI para duodeno, yeyuno e ileon respectivamente (Montagne et al., 2000).

**Bilis.** La bilis es una secreción esencial para la digestión y absorción de los lípidos en el intestino delgado. Los principales componentes son las sales biliares y fosfolípidos. Las sales biliares son sintetizadas en el hígado a partir del colesterol y en este mismo sitio son conjugadas a través de la unión covalente con los aminoácidos taurina y glicina (Drackley, 2000). Después de que realizaron su función son activamente absorbidas en el ileon y resecretadas en la bilis (Hofmann y Mysels, 1992). La glicina aporta más del 90% de los aminoácidos presentes en la bilis (Steendam et al., 2004). En promedio un cerdo de 40 kg secreta 2 litros de bilis, la cual aporta de 1.8 a 3 g de N (Leterme, 2003).

**2.2.2. Células de descamación.** En las secreciones del intestino delgado existen varios componentes y por lo tanto posee diferentes tipos celulares. El epitelio intestinal digiere y absorbe nutrientes, además secreta agua, moco, electrolitos y enzimas. El epitelio intestinal se puede separar en dos compartimientos: las criptas y las vellosidades (Figura 3). Las criptas alojan a las células indiferenciadas que darán lugar a las células enteroendocrinas, células de Paneth, células de Goblet, enterocitos y ocasionalmente células caliciformes (Madara, 1991; Ganong, 2002). Los enterocitos comienzan a migrar hacia las vellosidades, durante esta migración adquieren la estructura y funcionalidad de un

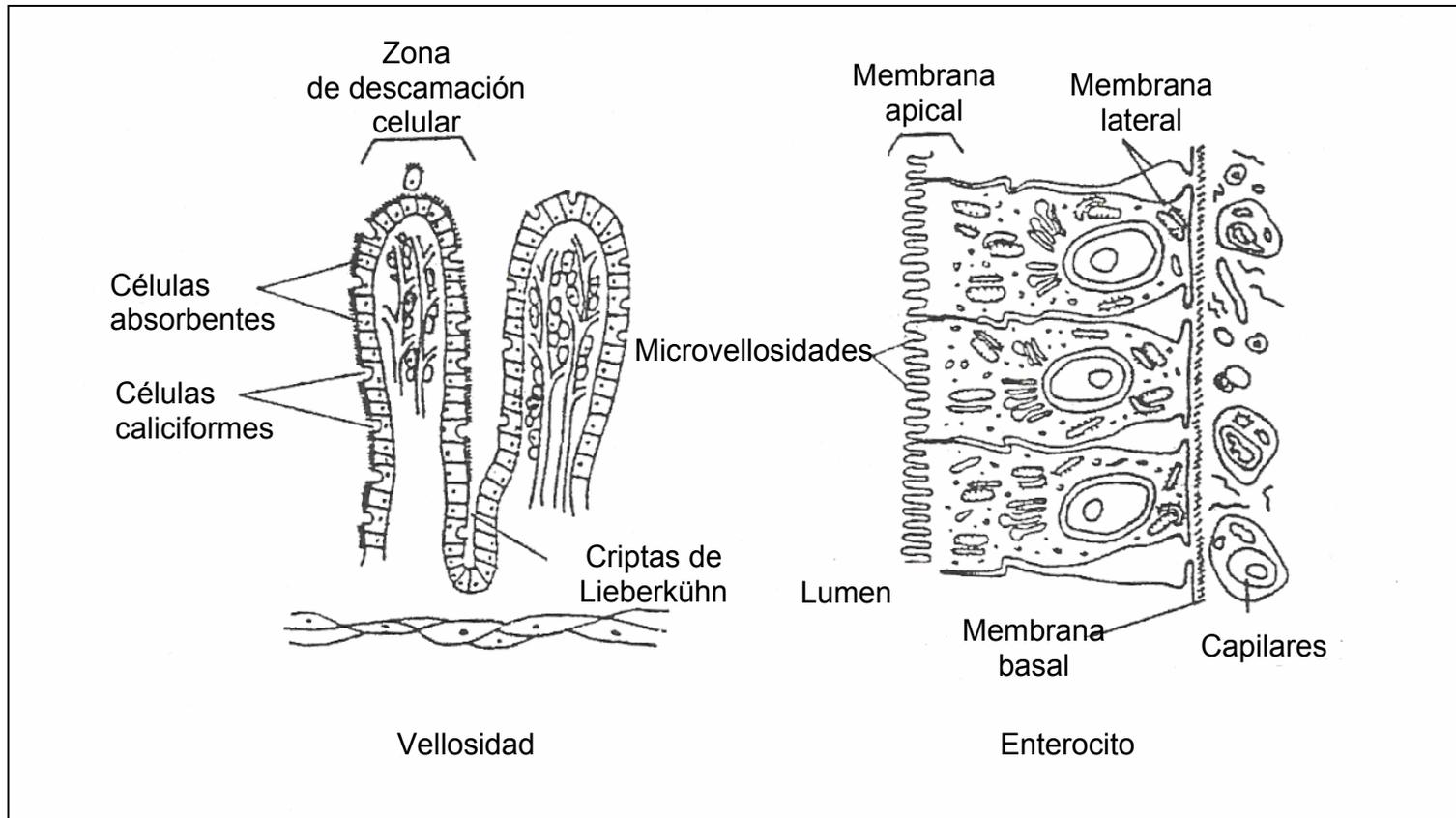


Figura 3. Estructura microscópica de la mucosa intestinal (Ortiz, 2002).

enterocito maduro, y al terminar este migran hacia la punta de la vellosidad. La maduración del enterocito es un proceso que dura de tres a cuatro días (Madara, 1991). Ya estando en la punta de la vellosidad, su vida promedio es de 2 a 5 días, lo que puede variar según la especie y el tipo de alimento, entonces sufren apoptosis y se desprenden hacia la luz intestinal (Ganong, 2002).

**2.2.3. Bacterias.** La luz intestinal se encuentra habitada por bacterias, que también aportan N no dietario sobre todo cuando se aproxima más hacia el intestino grueso (Madara, 1991). Al menos 20% de la fibra detergente neutra (FDN) que se incluye en la dieta se digiere antes de ileon terminal, en cerdos de 10 semanas de edad, lo que indica la presencia de bacterias en este sitio (Schulze et al., 1994).

Un método confiable para determinar la cantidad de N aportado por las bacterias es cuantificar el ácido diaminopimérico (DAPA) (Rubio, 2003), el cual puede ser utilizado como un marcador microbial en rumiantes, cerdos e incluso en perros, ya que es un componente de las paredes celulares de las bacterias y su proporción permanece constante con respecto a la proteína (Karr-Lilienthal et al., 2004; Sauer et al., 1991). Karr-Lilienthal et al (2004) determinaron que la relación N:DAPA en heces de perro fue de 18. Este análisis se puede realizar por cromatografía (HPLC), además de que puede incluirse en el mismo análisis a otros aminoácidos (Rubio, 2003).

La pared bacteriana se encuentra formada por unidades de péptidoglicano (o mureína), dentro de esta estructura se incluyen dos derivados de azúcares N-acetilglucosamina (NAcGL) y N-acetilmurámico (NAcMur), y un pequeño grupo de aminoácidos L-alanina (L-Ala), D-alanina (D-Ala), D-glutámico (D-Glu) y lisina (Lys) o en otros casos DAPA, estos componentes se unen y se repiten para formar la estructura de la pared (Figura 4). Es más frecuente encontrar al DAPA en las unidades de péptidoglicano de la pared de las bacterias Gram negativas (Caine et

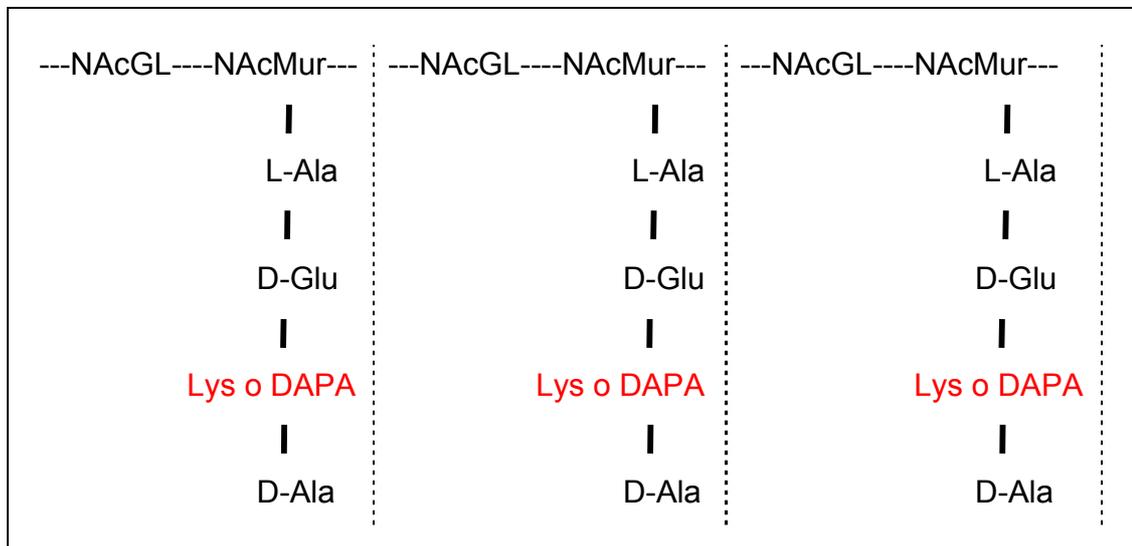


Figura 4. Estructura de la cadena de péptido glicano (Madigan, 2004).

al., 1999). El DAPA interviene en la síntesis de lisina en las bacterias, la estructura de estos dos aminoácidos es similar, Figura 5 (Madigan et al., 2004).

La cantidad de N que aportan las bacterias a nivel fecal en ratas varía de 78% a 83%, dependiendo del tipo de leguminosa que se incluye en la dieta (Rubio, 2003); mientras que en heces de perro este valor es del 50% (Karr-Lilienthal, 2004). Schulze et al. (1994), utilizando contenido ileal de cerdos, determinaron que el aporte de N bacteriano fue de 65.5% para la dieta control no encontrándose diferencias significativas al incluir diferentes niveles de FDN a la dieta; en el Cuadro 1 se puede observar la cantidad de DAPA y el N aportado por las bacterias en la dieta control y en las que se incluyó FDN.

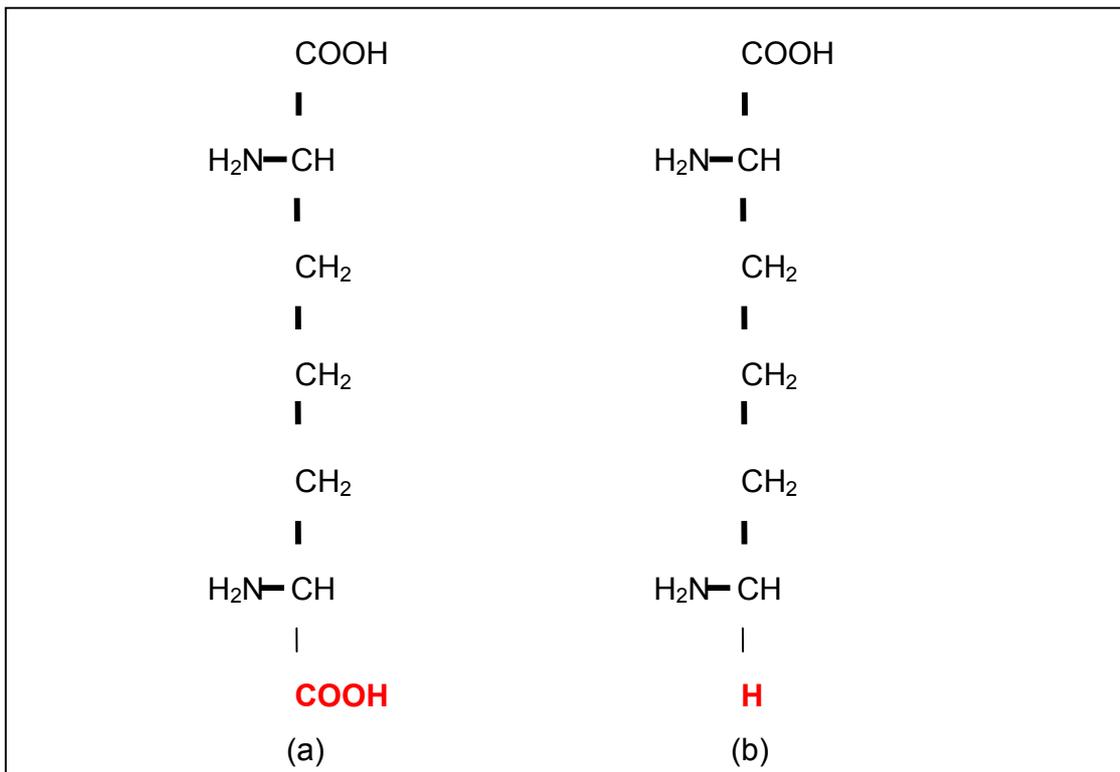


Figura 5. Comparación entre la estructura química del DAPA y la lisina. (a) Ácido diaminopimérico. (b) Lisina. Se resalta la única diferencia entre las moléculas (Madigan, 2004).

Cuadro 1. Cantidad de DAPA y de N bacteriano en el contenido ileal de cerdos alimentados con diferentes niveles de inclusión de fibra (Schulze et al., 1994).

	Nivel de inclusión de FDN			
	0	60	120	180
DAPA (mg/d)	48.30	53.79	48.24	58.48
DAPA/total N	0.017	0.017	0.014	0.014
N bacteriano (g/d)	1.83	2.037	1.827	2.215
N bacteriano/N total	0.655	0.647	0.514	0.544

La utilización de fibra por las bacterias depende en gran parte de la proporción de carbohidratos fermentables de la dieta, así la presencia de fibra fermentable en la dieta incrementa la población bacteriana (Budinton y Weiher,

1999; Stensig y Robinson, 1997). Sauer et al. (1991) encontraron que el N bacteriano en heces de cerdos en crecimiento fue de 83.3 para la dieta baja en fibra, y de 72.15 y 86.2% para dos dietas altas en fibra. Caine et al. (1999) reportan que la contribución de las bacterias al N endógeno se encuentra en un rango de 30 y 46.5%.

La aportación bacteriana al flujo endógeno de N y aminoácidos, se incrementa conforme pasa el tiempo posdestete; además la composición de la proteína endógena recuperada al final de ileon en cerdos en crecimiento, alimentados con dietas basadas en cereales, depende de la población y diversidad de las especies bacterianas (Caine et al., 1999).

### 2.3. Factores que alteran el flujo de N endógeno.

El incremento en la secreción de N endógeno se encuentra asociado con un aumento en la síntesis de secreciones, así como en el recambio celular (Grala et al., 1997). El N presente en el ileon terminal de cerdos es un balance entre secreción y reabsorción, dichos procesos pueden encontrarse afectados por diversos factores (Nyachoti et al., 1997). Además de la influencia de la fuente de proteína sobre la secreción endógena (Cuadro 2).

Cuadro 2. Pérdidas endógenas de N utilizando diferentes fuentes de proteína (Grala et al., 1997).

	Fuente de proteína		
	Gluten de maíz	Chícharos	Harina de colza
PE de N (g/d)	1.81 <sup>a</sup>	3.10 <sup>b</sup>	2.67 <sup>bc</sup>
PE de N (g/Kg de MSI)	2.10	3.66	3.05

PE= pérdidas endógenas

Las literales muestran diferencias entre tratamientos.

Existen otros factores que incrementan su secreción, o bien impiden su reabsorción a nivel ileal (factores específicos de la dieta), entre estos se encuentran:

- Lectinas. Incrementan la descamación celular, ya que tienen la habilidad para unirse y destruir la mucosa (Leterme, 2001).
- Taninos. Tienen alta afinidad por proteínas exógenas y endógenas, ligándolas y precipitándolas (Leterme, 2001).
- Inhibidores proteolíticos. Se unen de manera irreversible a la tripsina y quimotripsina inactivándolas, y debido a la falta de acción de dichas enzimas, se incrementa su secreción y por lo tanto las pérdidas endógenas (Leterme, 2001); en la soya se pueden encontrar los siguientes factores antitripsicos: los inhibidores de proteasa Kunitz y el Bowman-Birk (Pérez et al., 2003). Caine et al. (1998), reportan que la recuperación de aminoácidos fue más baja en ileon distal de lechones alimentados con dietas con soya procesada (4 g/Kg MSI) que los que consumieron dietas con soya no procesada (28.8 g/Kg MSI), lo que sugiere que los factores antitripsicos de la soya formaron complejos con las enzimas digestivas, incrementando la cantidad de N endógeno recuperado.
- Fibras. La fibra dietética se encuentra compuesta por una mezcla de polisacáridos estructurales y no estructurales (Schulze, 1994) entre los que se encuentran celulosa, hemicelulosa, pectinas, gomas, mucílagos y lignina (Calvert, 1991). La relación entre el flujo de N a nivel ileal y la utilización de fibra varia de una fibra a la otra, debido a sus respectivas propiedades funcionales (Leterme, 2001). La fibra soluble (gomas, pectinas) incrementa la viscosidad dentro del intestino, cubre las secreciones e impiden su reabsorción; mientras que la fibra dietética

insoluble (celulosa, hemicelulosa y lignina) estimula la pared intestinal modificando su estructura (Leterme, 2001). Bayardo (2000) menciona que fracción de FDN incrementa la excreción endógena de N (Bayardo, 2000), Nyachoti et al. (1997), observan que las pérdidas de N endógeno pueden deberse a la cantidad de fibra cruda presente en las dietas experimentales.

- Consumo de alimento. La información disponible acerca de la relación del consumo de alimento y el flujo de N endógeno es escasa y contradictoria (Cervantes et al., 2000); sin embargo, Cervantes et al. (2000) encontraron que el flujo de lisina, metionina y los demás aminoácidos esenciales incrementaron de manera lineal con el aumento en el consumo de alimento, sucediendo lo mismo con los no esenciales, a excepción de la prolina que solo tuvo una tendencia. Es importante mencionar que las dietas utilizadas contenían 3% de celulosa cristalina, lo cual pudo haber favorecido la descamación celular, y así incrementar el flujo de N endógeno. Hess y Sève (1999) también encontraron una respuesta lineal en el flujo de N al incrementar el consumo de alimento, las dietas utilizadas en los dos estudios antes mencionados fueron libres de proteína.

La proporción de los aminoácidos totales, tanto de origen endógeno como exógeno, recuperados al final del ileon en cerdos, depende de la digestibilidad de la proteína verdadera de la fuente proteica que se utiliza en los diferentes trabajos experimentales, así como del contenido de factores antinutricionales (Caine et al., 1998).

#### **2.4. Métodos para la determinación del N endógeno.**

En el transcurso de los años se han desarrollado diferentes técnicas para cuantificar las pérdidas endógenas, para lo cual comúnmente se utilizan animales

canulados a nivel del ileon, para tener acceso directo a la digesta ileal. Entre las técnicas utilizadas se encuentran las siguientes:

- Dieta libre de proteína. Es la más utilizada pues es una técnica fácil. El animal recibe una dieta sin proteína por varios días y se miden los flujos de N hacia ileon, teniendo como resultado los flujos endógenos basales (Hess y Séve, 1999; Leterme, 2001). Las pérdidas endógenas estimadas con esta técnica, no reflejan situaciones fisiológicas normales, pues las raciones utilizadas normalmente contienen proteínas en su formulación, lo que altera el nivel de secreción de N endógeno (Makkink et al., 1997). Cuando se utilizan dietas libres de proteína es común encontrar un flujo elevado de prolina. Cervantes et al. (2000) determinaron que el 25% del flujo total de aminoácidos fue prolina (debido a que la proteína de origen endógeno es muy rica en este aminoácido), seguida por ácido glutámico (10.5%), en cerdos en crecimiento. Esto se debe a que el bajo consumo de N incrementa el catabolismo de la proteína corporal, causando un incremento de alanina y glutamina en la sangre, posteriormente la glutamina es convertida en el enterocito a prolina (Wu et al., 1997).
- Fuentes de proteína altamente digestible (caseína, gluten de maíz, yema de huevo). Se asume que la digestibilidad verdadera de la caseína y del gluten de maíz es de 0.99 para la proteína cruda (PC) y los aminoácidos que los constituyen, por lo que no se induce ninguna secreción específica de proteína endógena y aminoácidos (Jansman et al., 2002), lo que permite estimar las pérdidas endógenas basales. Nyachoti et al. (1997) indican que el flujo endógeno de lisina fue de 0.58 g/kg MSI en la dieta que contenía como fuente de proteína a la caseína, comparado con las que contenían cebada o canola en cuyo caso los valores fueron de, 1.10 y 1.42 g/Kg MSI, respectivamente. Por otro lado, Salgado et al.

(2002), encontraron que el flujo ileal de proteína fue de 3.7 g/día, en cerdos alimentados con una dieta a base de caseína-almidón.

- Caseína hidrolizada enzimáticamente (CHE). Se utiliza como única fuente de proteína a la CHE, la cual contiene aproximadamente 56% de aminoácidos libres y 41% de di y tripéptidos con un peso molecular menor a 5000 Da: El contenido ileal es ultrafiltrado y se considera como pérdida endógena a la fracción que tiene un peso molecular mayor a 10 000 Da (Jansman et al., 2002)
- Técnica de regresión. Se mide el flujo ileal de N en animales alimentados con niveles crecientes de proteína, utilizando una fuente de proteína altamente digestible, y con base en el flujo ileal de N, posteriormente se calcula por extrapolación el flujo basal a una ingestión nula de proteína (Fan y Sauer, 1997; Leterme, 2001), lo que permite estimar las pérdidas endógenas basales (Jansman et al., 2002).
- Técnica de marcaje con nitrógeno-15 ( $^{15}\text{N}$ ). El  $^{15}\text{N}$  es un isótopo estable, y se mide la dilución de  $^{15}\text{N}$  a nivel ileal o fecal. Con esta técnica se puede hacer el marcaje de la fuente de proteína de la dieta, así como la endógena; permitiendo diferenciar entre el N endógeno y el proveniente de la dieta. (Leterme, 2001; Souffrant et al., 1993). Es importante mencionar que los aminoácidos pueden ser utilizados para la producción de mucina o bien por las bacterias, impidiendo que los aminoácidos lleguen a plasma y por lo tanto hay una dilución del marcaje en la proteína endógena (Lien et al., 1997). Además los enterocitos pueden estar utilizando los aminoácidos que se encuentran marcados, expulsándolos rápidamente hacia el lumen, siendo por lo tanto de origen endógeno, lo que provoca que el flujo de N endógeno se subestime (Hodgkinson et al., 2003).

- Técnica de homoarginina. Esta técnica consiste en convertir químicamente a la lisina en un derivado sintético, la homoarginina. Este proceso no altera la digestión y absorción de la proteína en la dieta, además de que la homoarginina no es incorporada dentro de las secreciones endógenas. Una desventaja de la técnica es que debido a que la tripsina rompe los enlaces donde se encuentra una lisina y está fue convertida a homoarginina, su proteólisis se ve interrumpida, por lo tanto, la digestibilidad ileal verdadera de estas dietas debe ser menor que las que no están marcadas. Otra limitante de este método es que únicamente el flujo de lisina es determinado, y el de los otros aminoácidos se calcula a partir de la composición de la proteína endógena (Nyachoti et al., 1997).

Hodgkinson et al. (2003), realizaron un estudio donde comparan el flujo de N endógeno por 3 métodos diferentes: caseína hidrolizada enzimáticamente, homoarginina, marcaje del alimento con  $^{15}\text{N}$  y marcaje del animal con  $^{15}\text{N}$ . Los resultados fueron 1.5, 1.2, 1.0 y 1.9 g/kg de MSI, respectivamente. Lo que indica que existe una variación del flujo de N endógeno según el método que se utilice para determinarlo. En el Cuadro 3 se enlistan los resultados del flujo basal de aminoácidos de algunos autores, donde se pueden observar que no todos son iguales, aunque se utilizó el mismo método.

Con base en la literatura consultada se puede concluir que las secreciones endógenas tienen diferentes orígenes y que pueden verse modificadas por factores presentes en las raciones. La importancia de conocer la cantidad de N endógeno es la de obtener una cuantificación más acertada de la digestibilidad del N y de los aminoácidos. Finalmente debido a que existe poca información con relación a la cantidad de N endógeno secretado en lechones es importante realizar más experimentos al respecto, por lo que los objetivos del presente trabajo fueron:

- Determinar la digestibilidad aparente y verdadera del nitrógeno y los aminoácidos provenientes de caseína en lechones recién destetados.
- Determinar la cantidad de nitrógeno endógeno y aminoácidos presente en el contenido ileal de lechones recién destetados.

Cuadro 3. Concentración de aminoácidos y N en la proteína endógena basal (g/Kg MSI), según diferentes autores.

AA	MÉTODO UTILIZADO					
	L P <sup>1</sup>	L P <sup>2</sup>	L P <sup>4</sup>	REGRESIÓN <sup>3</sup>	CASEÍNA <sup>2</sup>	YEMA DE HUEVO <sup>4</sup>
Arg	0.28	0.32	0.55	0.37	0.16	0.79
His	0.15	0.09	0.29	0.14	0.07	0.47
Iso	0.34	0.23	0.45	0.23	0.21	0.57
Leu	0.40	0.39	0.61	0.41	0.28	0.80
Lys	0.31	0.23	0.39	0.26	0.16	0.57
Met	0.07	0.07	0.11	0.14	0.06	0.14
Phe	0.26	0.20	0.48	0.25	0.13	0.56
Treo	0.34	0.37	0.58	0.42	0.36	0.76
Val	0.36	0.31	0.56	0.33	0.26	0.73
Trp	0.04	-----	-----	-----	-----	-----
Ala	0.34	0.46	0.51	0.41	0.31	0.68
Asp	0.55	0.35	0.84	0.47	0.24	1.32
Cys	0.18	0.02	0.18	-----	0.00	0.21
Glu	0.63	0.66	0.96	0.55	0.78	1.65
Gly	0.46	0.79	1.25	1.23	0.36	1.40
Ser	0.34	0.34	0.72	0.46	0.38	1.67
Tyr	0.22	0.22	0.40	0.29	0.14	0.48
Pro	0.76	2.08	1.37	-----	0.46	1.08
N	1.41	-----	2.10	1.67	-----	2.55

<sup>1</sup> Hess et al., 1998. <sup>2</sup> Otto et al., 2003. <sup>3</sup> Furuya y Kaji, 1989. <sup>4</sup> Leterme et al., 1998. AA= aminoácido, LP= libre de proteína.



### 3. MATERIAL Y MÉTODOS.

El trabajo experimental se llevó a cabo en la granja experimental del CENI-Fisiología, INIFAP, ubicado en Ajuchitlán, Colón, Querétaro. Los análisis químicos se realizaron en el laboratorio de Nutrición del INIFAP y en el laboratorio de Nutrición Animal de la Universidad Autónoma de Querétaro.

Se utilizaron 18 lechones productos de la cruce Landrace x Duroc, destetados a los  $18 \pm 1$  días de edad con un peso promedio de  $6.0 \pm 1.0$  Kg. Los animales se alojaron en jaulas individuales, elevadas con 35 cm de ancho por 72 cm de largo, piso de rejilla, con comedero y bebedero de chupón. Los animales se adaptaron a las jaulas y al alimento sólido el cual fue una mezcla de leche en polvo (80%) y almidón de maíz (20%) durante un período de 4 días, el día 21 se sometieron a la intervención quirúrgica para colocarles una cánula simple en T en ileon distal (Reis et al., 2000). Se formularon tres dietas con niveles crecientes de proteína: 10.5% (T1), 16.2% (T2) y 24.7% (T3) (Cuadro 4), las dietas contenían almidón de maíz, lactosa cristalina y como única fuente de proteína a la caseína. La caseína se incluyó reemplazando al almidón. Se incorporó óxido de cromo como marcador de la digestibilidad (3 g/Kg). El perfil de aminoácidos de las dietas experimentales se muestra en el Cuadro 5. Todos los animales se alimentaron con el T3 inmediatamente después de la cirugía hasta el día 8 para cubrir sus requerimientos nutricionales y a partir del día 9 se les proporcionó el tratamiento correspondiente (T1, T2 ó T3) durante 5 días para su adaptación, posteriormente se procedió a la obtención de las muestras de contenido ileal durante dos días consecutivos (Figura 6).

Las colectas de contenido ileal se realizaron directamente de la cánula los días 14 y 15 durante 12 horas (de 9:00 a 21:00 hrs.), las dos primeras horas la cánula permaneció abierta y posteriormente se intercalaron períodos de 1 hora cerrada y una hora abierta. Las muestras se colectaron en bolsas de plástico

Cuadro 4. Composición de las dietas experimentales.

Ingrediente (g/Kg de la dieta)	TRATAMIENTOS		
	T1	T2	T3
Caseína	89.76	179.95	270.14
Almidón de maíz	670.37	597.27	516.26
Lactosa	126.31	126.31	126.31
Triptosine	9.10	2.70	-----
Lisina-HCl	1.70	-----	-----
DL metionina	4.50	1.90	-----
L-treonina	4.80	1.50	-----
Aceite de maíz	40.00	40.00	40.00
Ortofosfato	32.07	27.91	23.80
Cloruro de sodio	6.37	6.35	6.32
Oxido de zinc	4.00	4.00	4.00
Antibiótico <sup>1</sup>	3.00	3.00	3.00
Vitaminas <sup>2</sup>	3.60	3.60	3.60
Minerales <sup>3</sup>	1.20	1.20	1.20
Antioxidante	0.2	0.2	0.2
Oxido de cromo	3.00	3.00	3.00
Carbonato de calcio	-----	1.08	2.14
PC (%) analizada	10.51	16.16	24.72
EM Calculada (MKal/Kg)	3.58	3.58	3.59

<sup>1</sup> Tylan (Elanco). Aporta 2.64 mg de fosfato de tilosina por kg de alimento.

<sup>2</sup> Premezcla de vitaminas que aporta por Kg de dieta: Vitamina A 10,200 UI; D 1,980 UI; E 60 UI; K 1.20 mg; Colina 967 mg; Niacina 36 mg; Ácido Pantoténico 17 mg; Rivoflavina 7.2 mg; Vitamina B<sub>12</sub> 38 µg; Tiamina 0.30 mg; Piridoxina 0.31 mg; Biotina 0.08 mg; Ácido Fólico 0.75 mg.

<sup>3</sup> Premezcla de minerales que aporta por Kg de dieta: Cu 14.4 mg; I 800 mg; Fe 105 mg; Mn 36 mg; Se 0.3 mg; Zn 144 mg.

Cuadro 5. Perfil de aminoácidos de las dietas experimentales.

	TRATAMIENTOS		
	T1	T2	T3
PC	10.51	16.16	24.72
AA Esenciales			
Arginina	3.37	5.89	9.74
Lisina	9.32	13.53	18.89
Histidina	2.55	4.70	7.40
Leucina	8.20	14.60	23.83
Isoleucina	4.62	8.23	13.43
Valina	5.82	10.44	16.94
Fenilalanina	4.67	8.23	14.43
Treonina	8.40	11.30	11.42
AA no esenciales			
Ac. Aspártico	6.20	11.01	18.03
Ac. Glutámico	20.04	36.01	59.33
Serina	4.81	8.60	14.20
Glicina	1.83	3.21	5.06
Alanina	2.84	4.97	8.02
Tirosina	4.40	7.74	13.54
Prolina	8.20	16.51	22.66

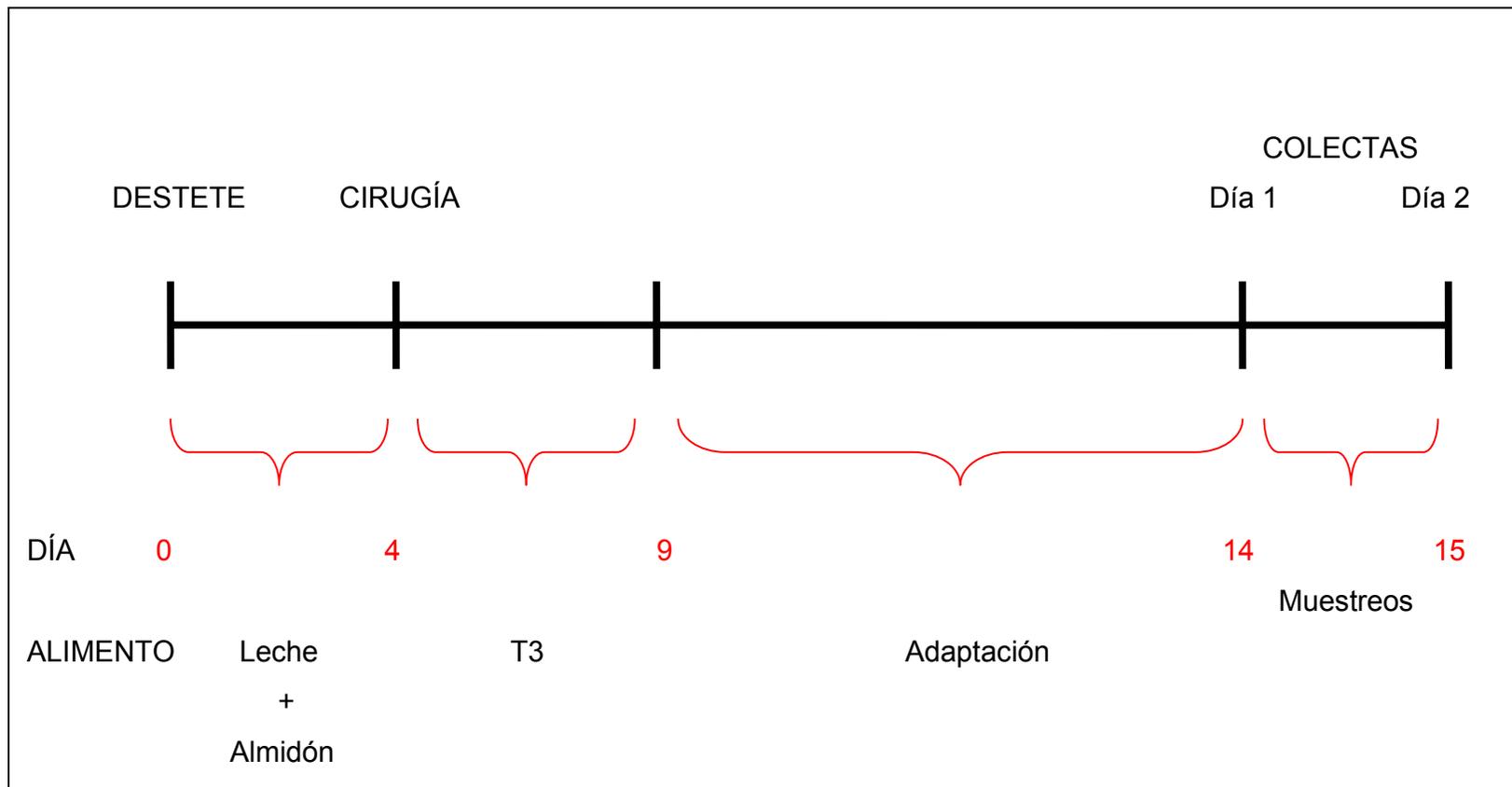


Figura 6. Cronología de actividades realizadas durante la parte experimental.

con 2 ml de ácido clorhídrico (0.2 N), para bloquear toda actividad bacteriana (Reis et al., 2000). El contenido ileal se colocó en un recipiente para su congelación (-20°C). Las muestras obtenidas en los dos días de colecta se colocaron en un mismo recipiente para cada animal, posteriormente se liofilizaron y se molieron para realizar los análisis correspondientes.

El consumo de alimento se registró diariamente el cual, al igual que el agua, se proporcionó a libre acceso. El alimento se suministró en 3 horarios: 7:00, 12:00 y 18:00 hrs.

Análisis bromatológicos. A las dietas experimentales y a las muestras de contenido ileal se les determinó materia seca, proteína cruda (A.O.A.C., 1990), cromo (Fenton y Fenton, 1979) y aminoácidos (HPLC).

### 3.1. Cálculos.

- Para medir el flujo de nitrógeno endógeno se empleó la ecuación de Fan y Sauer (1995):

$$F_{AA} = A_F \times (I_D / I_F)$$

Donde:

$F_{AA}$  = flujo de N ó aminoácido en digesta ileal, expresado como g/Kg de MSI.

$A_F$  = concentración del nutrimento en digesta ileal (g/Kg de MS).

$I_D$  = concentración del marcador en la dieta (g/Kg de MS).

$I_F$  = concentración del marcador en digesta ileal (g/Kg de MS).

- Para determinar el CDIA se utilizó la siguiente ecuación (Fan et al., 1995):

$$CDIA_D = 1 - (I_D \times A_F) / (A_D \times I_F)$$

Donde:

$CDIA_D$  = coeficiente de digestibilidad aparente de un nutrimento en la dieta.

$I_D$  = concentración del marcador en la dieta (g/Kg de MS).

$A_F$  = concentración del nutrimento en la digesta ileal (g/Kg de MS).

$A_D$  = concentración del nutrimento en la dieta (g/Kg de MS).

$I_F$  = concentración del marcador en la digesta ileal (g/Kg de MS).

- Pérdidas endógenas de N y aminoácidos y el CDI verdadera se calcularon utilizando el método de regresión con la fórmula propuesta por Furuya y Kaji (1989):

$$Y = \alpha + \beta X$$

Donde:

$Y$  = cantidad en g de N o aminoácido desaparecido en el tracto digestivo.

$\alpha$  = ordenada al origen (pérdida endógena de N o aminoácido en g/Kg MSI).

$\beta$  = cantidad de N o aminoácido desaparecido en el tracto digestivo (equivalente al CDIv).

$X$  = el N o aminoácido consumido en g/Kg de MSI.

### 3.2. Análisis estadístico.

Se utilizó un diseño de bloques al azar, se emplearon tres bloques en donde cada bloque fue un grupo de 6 lechones, ya que el espacio disponible no era suficiente para introducir a todos los animales. El modelo estadístico fue el siguiente:

$$\gamma_{ijk} = \mu + \beta_i + \delta(i) + \tau_j + \varepsilon(ij)k$$

$\gamma_{ijk}$ : representa la secreción de N endógeno del k-ésimo animal en la j-ésima dieta dentro del i-ésimo bloque

$\mu$ :	media general	
$\beta_i$ :	efecto del i-ésimo bloque	$i=1-3$
$\delta$ :	error de restricción asociado con el i-ésimo bloque	
$\tau_j$ :	efecto de la j-ésima dieta	$j=1-3$
$\varepsilon(ij)k$ :	error	

Para comparar las medias se utilizó la prueba Student-Newman Keuls (SNK) (Steel y Torrie, 1985). Los análisis se realizaron utilizando el procedimiento GLM del paquete estadístico SAS.

## **4. RESULTADOS.**

Los animales no manifestaron síntomas de enfermedad durante el experimento. En los tratamientos 1 y 3 se perdió una observación en cada uno (cada pérdida representó el 16.7%), debido a que al momento del sacrificio se observó una fistulación.

### **4.1. Flujo de N endógeno y pérdidas basales.**

En el Cuadro 6 se resumen los resultados del flujo de N endógeno a nivel ileal en lechones destetados. El flujo de N se incrementó ( $P<0.05$ ) al incluir los dos niveles más altos de N en las dietas (T2 y T3), siendo ambas significativamente diferentes del primer tratamiento (T1). El promedio del flujo de N de los 3 tratamientos fue 3.323 g/Kg MSI.

Los aminoácidos más abundantes en el contenido ileal fueron el ácido glutámico (3.247g/Kg MSI), el ácido aspártico (1.586 g/Kg MSI), la arginina (1.426 g/Kg MSI) y la serina (1.407 g/Kg MSI); sin embargo los niveles de treonina (1.262g/Kg MSI) y prolina (1.264 g/Kg MSI) también se mantuvieron altos. Los aminoácidos en menor concentración fueron la histidina (0.539 g/Kg MSI), tirosina (0.547 g/Kg MSI) y la metionina (0.283 g/kg MSI).

El flujo de los aminoácidos histidina ( $P<0.001$ ), isoleucina ( $P<0.01$ ), valina ( $P<0.05$ ), treonina ( $P<0.05$ ), ácido aspártico ( $P<0.05$ ), ácido glutámico ( $P<0.05$ ) y serina ( $P<0.01$ ) fueron significativamente diferentes entre T1 y los otros tratamientos, siendo similares T2 y T3, en estos aminoácidos se observó un incremento en el flujo al incluir más N en la dieta. Para los demás aminoácidos no se observaron diferencias significativas ( $P>0.05$ ).

Cuadro 6. Flujo de N y aminoácidos a nivel ileal en lechones destetados alimentados con niveles crecientes de caseína (g/Kg MSI).

	TRATAMIENTOS			P	EEM <sup>1</sup>
	T1	T2	T3		
N	2.808 <sup>a</sup>	3.525 <sup>b</sup>	3.635 <sup>b</sup>	P<0.05	0.1226
AA Esenciales					
Arginina	1.250	1.558	1.469	NS	0.0646
Lisina	0.611	0.739	0.710	NS	0.0399
Histidina	0.360 <sup>a</sup>	0.517 <sup>b</sup>	0.740 <sup>b</sup>	P<0.001	0.0385
Leucina	0.905	1.172	1.108	NS	0.0428
Isoleucina	0.649 <sup>a</sup>	0.877 <sup>b</sup>	0.933 <sup>b</sup>	P<0.01	0.0268
Valina	0.807 <sup>a</sup>	1.079 <sup>b</sup>	1.105 <sup>b</sup>	P<0.05	0.0353
Fenilalanina	0.552	0.675	0.601	NS	0.0259
Treonina	1.013 <sup>a</sup>	1.341 <sup>b</sup>	1.433 <sup>b</sup>	P<0.05	0.0488
Metionina	0.297	0.306	0.253	NS	0.0192
AA no esenciales					
Ac. Aspártico	1.256 <sup>a</sup>	1.768 <sup>b</sup>	1.733 <sup>b</sup>	P<0.05	0.0798
Ac. Glutámico	2.330 <sup>a</sup>	3.652 <sup>b</sup>	3.759 <sup>b</sup>	P<0.05	0.2103
Serina	1.038 <sup>a</sup>	1.491 <sup>b</sup>	1.693 <sup>b</sup>	P<0.01	0.0571
Glicina	0.944	0.972	1.021	NS	0.0405
Alanina	0.965	1.243	1.222	NS	0.0494
Tirosina	0.486	0.607	0.548	NS	0.0247
Prolina	1.028	1.368	1.397	NS	0.0751

<sup>1</sup> Error estándar de la media.

Las literales muestran diferencias entre tratamientos.

NS = No significativo

Todas las pendientes calculadas por el método de regresión fueron significativas (P<0.001) (Cuadro 7). La pérdida basal de N fue de 2.712 g/Kg MSI. Los aminoácidos más abundantes en las pérdidas basales fueron el ácido glutámico (2.178 g/Kg MSI), arginina (1.364 g/Kg MSI) y ácido aspártico (1.245 g/Kg MSI). Los coeficientes de regresión que se obtuvieron fueron iguales o mayores a 0.98, lo que indica una alta relación entre las variables utilizadas para calcular las regresiones.

#### **4.2.- Coeficiente de digestibilidad ileal aparente.**

En el Cuadro 8 se pueden observar los CDla para lechones destetados alimentados con niveles crecientes de caseína. Se encontraron diferencias significativas en el CDla entre tratamientos para el N y todos los aminoácidos. El CDla incrementó a la medida que se incluyó más N en las dietas ( $P < 0.001$ ) para el N y los siguientes aminoácidos: arginina, leucina, isoleucina, valina, treonina, fenilalanina, ácido aspártico, serina, glicina, alanina y tirosina. El resto de los aminoácidos no se comportó de manera similar, debido a que por lo menos dos tratamientos fueron estadísticamente iguales.

Los aminoácidos con mayor CDla (en promedio para los tres tratamientos) fueron para lisina (0.95), metionina (0.93), valina (0.93) leucina (0.92), tirosina (0.92) y fenilalanina (0.92) siendo el menor para la arginina (0.73) y glicina (0.48).

#### **4.3. Coeficiente de digestibilidad ileal verdadera.**

Los resultados muestran que al incrementar el consumo de proteína o aminoácido su absorción aumenta linealmente. El CDlv calculado por el método de regresión fue mayor a 0.93 para N y los aminoácidos (Cuadro 7), siendo el menor para la histidina (0.93) y la serina (0.95). Para los demás aminoácidos los CDlv fueron mayores a 0.96, observándose valores elevados para fenilalanina (1.00), tirosina (1.00), arginina (0.99), lisina (0.99), leucina (0.99), y glicina (0.99).

Cuadro 7. Pérdidas basales (g/Kg MSI) y CDIV de N y aminoácidos obtenidos por el método de regresión.

	<b>Pérdidas basales (<math>\alpha</math>)</b>	<b>EE1</b>	<b>CDIV (<math>\beta</math>)</b>	<b>EE2</b>	<b>R<sup>2</sup></b>
N	-2.712	0.590	0.978	0.003	0.993
<b>AA Esenciales</b>					
Arginina	-1.364	0.255	0.990	0.038	0.980
Lisina	-0.595	0.159	0.994	0.011	0.998
Histidina	-0.184	0.103	0.930	0.019	0.994
Leucina	-0.984	0.192	0.995	0.011	0.998
Isoleucina	-0.642	0.165	0.980	0.018	0.995
Valina	-0.813	0.182	0.984	0.015	0.997
Fenilalanina	-0.632	0.102	1.002	0.010	0.998
Treonina	-0.957	0.206	0.960	0.026	0.990
Metionina	-0.355	0.0879	0.970	0.090	0.998
<b>AA no esenciales</b>					
Ac. Aspártico	-1.245	0.263	0.971	0.021	0.994
Ac. Glutámico	-2.178	0.694	0.971	0.017	0.996
Serina	-0.914	0.258	0.950	0.026	0.990
Glicina	-0.953	0.128	0.993	0.034	0.982
Alanina	-0.995	0.199	0.972	0.035	0.981
Tirosina	-0.552	0.093	1.001	0.010	0.999
Prolina	-0.973	0.270	0.981	0.016	0.996

$\alpha$  = ordenada al origen (pérdidas endógenas de N o aminoácidos a nivel ileal).

$\beta$  = cantidad de N o aminoácido desaparecido en el tracto digestivo equivalente al CDIV.

EE1 = error estándar de la ordenada al origen.

EE2 = error estándar de la pendiente.

$r^2$  = coeficiente de regresión.

Cuadro 8. Digestibilidad ileal aparente de N y aminoácidos de lechones destetados alimentados con niveles crecientes de caseína.

	TRATAMIENTOS			P	EEM <sup>1</sup>
	T1	T2	T3		
N	0.828 <sup>a</sup>	0.865 <sup>b</sup>	0.904 <sup>c</sup>	P<0.001	0.0006
AA Esenciales					
Arginina	0.623 <sup>a</sup>	0.735 <sup>b</sup>	0.841 <sup>c</sup>	P<0.001	0.0117
Lisina	0.934 <sup>a</sup>	0.945 <sup>a</sup>	0.961 <sup>b</sup>	P<0.05	0.0035
Histidina	0.855 <sup>a</sup>	0.890 <sup>b</sup>	0.898 <sup>b</sup>	P<0.05	0.0071
Leucina	0.887 <sup>a</sup>	0.920 <sup>b</sup>	0.951 <sup>c</sup>	P<0.001	0.0035
Isoleucina	0.856 <sup>a</sup>	0.893 <sup>b</sup>	0.926 <sup>c</sup>	P<0.001	0.0039
Valina	0.857 <sup>a</sup>	0.997 <sup>b</sup>	0.931 <sup>c</sup>	P<0.001	0.0039
Fenilalanina	0.880 <sup>a</sup>	0.920 <sup>b</sup>	0.956 <sup>c</sup>	P<0.001	0.0038
Treonina	0.767 <sup>a</sup>	0.802 <sup>b</sup>	0.869 <sup>c</sup>	P<0.001	0.0078
Metionina	0.897 <sup>a</sup>	0.933 <sup>b</sup>	0.969 <sup>c</sup>	P<0.001	0.0042
AA no esenciales					
Ac. Aspártico	0.795 <sup>a</sup>	0.839 <sup>b</sup>	0.900 <sup>c</sup>	P<0.001	0.0072
Ac. Glutámico	0.881 <sup>a</sup>	0.898 <sup>a</sup>	0.934 <sup>b</sup>	P<0.01	0.0055
Serina	0.781 <sup>a</sup>	0.825 <sup>b</sup>	0.875 <sup>c</sup>	P<0.001	0.0073
Glicina	0.477 <sup>a</sup>	0.697 <sup>b</sup>	0.793 <sup>c</sup>	P<0.001	0.0123
Alanina	0.655 <sup>a</sup>	0.749 <sup>b</sup>	0.840 <sup>c</sup>	P<0.001	0.0109
Tirosina	0.888 <sup>a</sup>	0.921 <sup>b</sup>	0.957 <sup>c</sup>	P<0.001	0.0037
Prolina	0.871 <sup>a</sup>	0.917 <sup>b</sup>	0.936 <sup>b</sup>	P<0.001	0.0049

<sup>1</sup> Error estándar de la media.

Las literales muestran diferencias entre tratamientos.

## **5. DISCUSIÓN.**

Debido a que en la literatura existen pocos trabajos relacionados con el flujo ileal de N y de aminoácidos de origen endógeno a nivel ileal en lechones (Caine et al., 1999; Grala et al., 1997; Makkink et al., 1997; Mariscal et al., 2005), los resultados del presente trabajo contribuyen a enriquecer la información sobre dicho tema.

En los estudios revisados se encontró que existen diferencias entre los resultados del flujo de N y aminoácidos a nivel ileal, lo cual puede ser consecuencia de las dietas utilizadas y las técnicas para la determinación, entre otros factores (Fan et al., 1995; Fan y Sauer, 1997). Además este parámetro depende de los diferentes tipos de secreciones inducidas a lo largo del aparato digestivo. Además de lo anterior, la proporción de aminoácidos de origen endógeno recuperados en ileon distal se relaciona con la digestibilidad verdadera de la fuente de proteína que se este utilizando, así como del contenido de factores antinutricionales (Caine et al., 1998).

### **5.1. Flujo de N endógeno y pérdidas basales.**

El promedio entre tratamientos del flujo total de N a nivel ileal del presente trabajo fue menor a los resultados que presentan Mariscal et al. (2005) (3.322 vs 3.835) los cuales se obtuvieron en lechones a los 14 días después de las cirugías, quienes utilizaron dietas con niveles crecientes de caseína como fuente de proteína. El promedio del flujo de algunos aminoácidos de los tres tratamientos, encontrados en este trabajo fueron similares a los que presentan los mismos autores: arginina (1.426 vs 1.353), lisina (0.687 vs 0.701), leucina (1.062 vs 1.149), treonina (1.262 vs 1.277), ácido aspártico (1.586 vs 1.650), alanina (1.143 vs 1.129) y tirosina (0.547 vs 0.527), respectivamente. Caine et al. (1997) realizaron un estudio con diferentes tratamientos para soya (dieta con soya no tratada, dieta con soya tratada, a las dos dietas anteriores les adicionó una proteasa, resultando en total 4 tratamientos), los resultados del flujo de aminoácidos en g/kg MSI que reportan son mayores a los del presente estudio para: lisina (1.1 vs 0.687), leucina (1.4

vs 1.062), treonina (2.2 vs 1.262), alanina (2.3 vs 1.143), tirosina (1.2 vs 0.547), histidina (1.3 vs 0.540), alanina (2.3 vs 1.130), valina (1.9 vs 0.990), glicina (2.2 vs 0.980) y serina (1.6 vs 1.390) respectivamente; probablemente se deba a que la fuente de proteína que utilizaron induce un mayor el flujo de N, debido a que incrementa las secreciones dentro del intestino, pues el flujo de N endógeno y exógeno depende de la fuente de proteína que se incluye en las raciones (Grala et al., 1998). Por lo que el consumo de raciones en las que se incluye una fuente de proteína altamente digestible el flujo de N y aminoácidos es menor (Makkink et al., 1997).

El incremento que se observó en el flujo de N al aumentar la PC en la dieta también fue registrado por otros autores (Fan y Sauer, 1997; Fan y Sauer 2002); sin embargo, la contribución de aminoácidos endógenos (g/Kg MSI) puede ser constante independientemente del incremento en sus niveles dietarios (Fan et al., 1995), por lo que en el presente trabajo no se observó un incremento en el flujo de los aminoácidos lisina, leucina, fenilalanina, glicina, alanina, tirosina y prolina cuando se aumentó el nivel de proteína dietaria.

Las diferencias en la cantidad de aminoácidos endógenos es el resultado de la proporción de los mismos en las diversas secreciones a lo largo del aparato digestivo (Fan y Sauer, 1997). De los aminoácidos presentes en el contenido ileal, el que se encontró en mayor proporción fue el ácido glutámico (18% de las pérdidas totales), sucediendo lo mismo en otros trabajos los cuales utilizaron fuentes de proteína distintas (Fan y Sauer, 1997; Hodgkinson et al., 2003). En el trabajo realizado por Cervantes et al. (2001) el ácido glutámico fue el segundo más abundante (10.5%) en las pérdidas totales. Así mismo, Hess et al. (1998) en un trabajo donde se utilizó una dieta libre de proteína y otras dos con diferentes fuentes de proteínas, el ácido glutámico fue el aminoácido más abundante a nivel ileal, al igual que en aves (Ravindran, 2004). Esto se puede deber a que dentro de las secreciones pancreáticas existe una alta concentración de ácido glutámico (Gubert et al., 1996). En las pérdidas basales el ácido glutámico sigue siendo el más abundante, lo cual ha sido reportado con anterioridad por Leterme et al. (1998) al utilizar una fuente de proteína altamente digestible.

La proteína endógena en ileon distal consiste principalmente de secreciones sin digerir, siendo abundantes las biliares y moco (glucoproteínas), por lo que es muy común encontrar en este sitio elevadas proporciones de los aminoácidos que las componen (Moughan et al., 1992). Por lo que el flujo ileal de treonina (7%) y serina (8%) puede ser consecuencia de la cantidad de mucina presente en digesta ileal, pues dentro de dicha proteína se encuentra una región rica en estos aminoácidos (Montagne et al., 2000; Perez y Hill, 1999). El flujo de serina fue similar a lo reportado por Caine et al. (1998) (8%) en cerdos en crecimiento. En las pérdidas basales del presente estudio estos aminoácidos representaron el 6.8 y el 6.5%, respectivamente, la pérdida basal de treonina es ligeramente mayor a la que reportan Mariscal et al., (2005) (5.8%), sin embargo, el valor de la serina se comportó de manera similar (6.75%). Las pérdidas basales que encontraron Fan et al. (1995) son mayores a los resultados obtenidos en el presente estudio, 7.56% para la treonina y 7.45% para la serina.

El elevado flujo de arginina (8% de las pérdidas totales) se puede deber a que el intestino delgado no es el único, pero sí el mayor órgano que interviene en la síntesis de pirrolina 5-carboxilato (P5C) desde glutamina arterial, el P5C es un intermediario en la síntesis de arginina (Wu et al., 1997). El flujo de arginina encontrado en el presente estudio es similar al que reportan Mariscal et al. (2005) en lechones destetados; Fan y Sauer (1997) mencionan que la arginina se encuentra dentro de los tres aminoácidos esenciales más abundantes en el contenido ileal en cerdos de 35 Kg. En las pérdidas basales, la arginina es el aminoácido esencial más abundante, lo cual ha sido reportado por Mariscal et al. (2005).

## **5.2. Coeficiente de digestibilidad ileal aparente.**

Al calcular el CDla no se toma en consideración que en el contenido ileal existe N proveniente de las secreciones del aparato digestivo (moco, enzimas y bilis) además de las células descamadas y la flora bacteriana (Darragh y Hodgkinson, 2000), por lo que la digestibilidad es subestimada.

El elevado CD<sub>Ia</sub> del N de la caseína ha sido reportado anteriormente por algunos trabajos (Mariscal et al, 2005; Nyachoti et al, 1997). Similarmente el presente trabajo y el de Mariscal et al. (2005) se observó el mismo fenómeno; un incremento en la digestibilidad a medida que se incluye más N en la dieta. Esto puede ser explicado por la menor contribución de N y aminoácidos endógenos al aumentar la proteína dietaria (Furuya y Kaji, 1989).

El CD<sub>Ia</sub> del N fue similar a la que encontraron Nyachoti et al. (1997) de 89%. Los resultados de CD<sub>Ia</sub> para el T3 son similares a los que reportan Nyachoti et al. (1997) en la dieta que se incluyó 18% de proteína utilizando como fuente a la caseína.

De todos los aminoácidos, el que tuvo el menor CD<sub>Ia</sub> fue la glicina, lo que también ha sido reportado por otros autores (Mariscal et al., 2005 y Nyachoti et al., 1997). La baja digestibilidad determinada para este aminoácido puede ser debido a que se encuentra en las secreciones biliares (ácido glicocólico), por lo tanto el flujo endógeno de este aminoácido se mantiene alto a nivel ileal, lo que hace que el coeficiente de digestibilidad se subestime al no tomar en cuenta lo anterior (Steendam et al., 2004).

### **5.3. Coeficiente de digestibilidad ileal verdadera.**

El CD<sub>Iv</sub> para el N y los aminoácidos de caseína generalmente es alto (Furuya y Kaji, 1989; Nyachoti et al., 1997). El resultado es similar al mencionado por diferentes autores.

El CD<sub>Iv</sub> para el N fue de 0.978, lo cual nos indica que la proteína de la caseína es altamente digestible. Este resultado fue muy cercano al que obtuvieron Mariscal et al. (2005) de 0.989 y Nyachoti et al. (1997) de 0.997, siendo mayor a los que indicaron Furuya y Kaji (1989) de 0.95. En todos estos estudios se utilizó caseína como fuente de proteína.

El CDIV para isoleucina y ácido glutámico fue similar al que obtuvieron Furuya y Kaji (1989); para histidina el valor del presente trabajo es menor, y para el resto de los aminoácidos los valores obtenidos fueron mayores. Los resultados de los CDIV para los aminoácidos que presentan Fan et al. (1995) son menores a los de este trabajo, lo cual se puede deber a que como fuente de proteína utilizaron pasta de soya. Sin embargo, los CDIV son similares para la mayoría de los aminoácidos, a los señalados por Nyachoti et al. (1997) cuando incluyen como fuente de proteína a la caseína, a excepción de la histidina, treonina, alanina, asparagina más ácido aspártico y glicina.

## **6. CONCLUSIONES.**

En base a los resultados obtenidos se concluye que en lechones recién destetados:

- El coeficiente de digestibilidad ileal aparente del N fue de 86.5%, y se incrementó al aumentar el nivel de nitrógeno en la dieta, sucediendo lo mismo para la mayoría de los aminoácidos. Siendo el coeficiente de digestibilidad ileal verdadero para el N fue de 97.8%.
- El flujo de aminoácidos fue mayor para los que forman parte de las secreciones que existen a lo largo del aparato digestivo, como sucedió para serina y treonina que forman parte de la mucina y el ácido glutámico que es abundante en las secreciones pancreáticas.
- Cuantificar el nitrógeno de origen endógeno dentro del contenido ileal contribuye a obtener un cálculo más acertado del coeficiente de digestibilidad, pues al no tomarlo en consideración se está subestimando en 11.5% dicho valor.

## 7. REFERENCIAS.

- AOAC.1990. Official Methods of Analysis. Association of Official Agricultural Chemists. Washington, D. C. USA.
- Bayardo UA. 2000. Efecto del nivel y tipo de fibra sobre la excreción de nitrógeno y aminoácidos endógenos y su efecto sobre la digestibilidad ileal de la proteína en cerdos. Tesis de Maestría. UNAM.
- Buddinton RK, Weiher E. 1999. The application of ecological principles and fermentable fibers to manage the gastrointestinal tract ecosystem. J. Nutr. 129: 1446S-1450S.
- Caine WR, Tamminga S, Verstegen MAW, Sauer WC, Schulze H. 1997. Endogenous recoveries and the true ileal digestibilities of amino acids in newly weaned piglets fed diets with protease-treated soybean meal. J. Anim. Sci. 75: 2970-2979.
- Caine WR, Sauer WC, Verstegen MWA, Tamimminga S, Li S, Schulze H. 1998. Guanidinated protein test meals with higher concentration of soybean trypsin inhibitors increase ileal recoveries of endogenous amino acids in pigs. J. Nutr. 128: 598-605.
- Caine WR, Tamminga S, Sauer WC, Verstegen MWA, Schulze H. 1999. Bacterial contributions to total and endogenous recoveries of nitrogen and amino acids in ileal digesta of newly weaned piglets fed protease-treated soybean meal. Livest. Prod. Sci. 57: 147-157.
- Calvet CC. 1991. En: Millar ER, Ultrey DE, Lewis AJ. Swine Nutrition. 1ª ed. Edit: Butterworth-Heinemann. USA. Pp: 285-288.
- Cervantes RM, González VV, Rodríguez RS, Cuca GM, Cromwell G. 2000. Pérdida de aminoácidos endógenos en cerdos con niveles variables de consumo de alimento. Agrociencia 35: 707-715.
- Chuch DC, Pond WG. 1988. Basic Animal Nutrition and Feeding. 3 edición. Wiley. USA.
- Costanzo LS. 1998: Fisiología. Mc Graw Hill Interamericana. España.

- Darragh AJ, Hodgkinson SM. 2000. Criteria and significance of dietary protein sources in humans. Quantifying the digestibility of dietary protein. *J. Nutr.* 130: 1850S-1856S.
- Drackley JK. 2000. Lipid Metabolism. En: D'Mello JPF. *Farm Animal Metabolism and Nutrition*. 1<sup>a</sup> ed. Edit: CABI Publishing. Reino Unido. Pp: 98.
- Fan MZ, Sauer WC. 1995. Determination of apparent ileal amino acid digestibility in barley and canola meal for pigs with the direct, difference, and regression methods. *J. Anim. Sci.* 73: 2364-2374.
- Fan MZ, Sauer WC, McBurney MI. 1995. Estimation by regression analysis of the endogenous amino acid levels in digesta collected from the distal ileum of pigs. *J. Anim. Sci.* 73: 2319-2328.
- Fan MZ, Sauer WC. 1997. Determination of true ileal amino acid digestibility in feedstuffs for pigs with the linear relationships between distal ileal outputs and dietary inputs of amino acids. *J. Sci. Food Agric.* 22: 189-199.
- Fan MZ, Sauer WC. 2002. Determination of true ileal amino acid digestibility and the endogenous amino acid outputs associated with barley samples for growing-finishing pigs by the regression analysis technique. *J. Anim. Sci.* 80: 1593-1605.
- Faure M, Moënnoz D, Montigon F, Fay LB, Breuillé D, Finot PA, Ballèvre O, Boza J. 2002. Development of a rapid and convenient method to purify mucins and determine their in vivo synthesis rate in rats. *Anal. Biochem.* 307: 244-251.
- Faure M, Moënnoz D, Montigon F, Mettraux C, Breuillé D, Ballèvre O. 2005. Dietary threonine restriction specifically reduces intestinal mucin synthesis in rats. *J. Nutr.* 135 : 486-491.
- Fenton and Fenton. 1979. An improved procedure for determination of chromic oxide in feed and feces. *Can. J. Anim. Sci.* 59: 631-634.

- Furuya S, Kaji Y. 1989. Estimation of the true ileal digestibility of amino acids and nitrogen from their apparent values for growing pigs. *Anim. Feed Sci. Technol.* 26:271-285.
- Ganong, W. F. 2002 *Fisiología Médica*. 18<sup>a</sup> ed. Edit: Manual Moderno. México, D. F.
- Grala W, Verstegen MWA, van Leeuwen P, Huisman J, Jansman AJM, Tamminga S. 1997. Nitrogen balance of pigs as affected by feedstuffs causing different endogenous nitrogen flow at the terminal ileum. *Livest. Prod. Sci.* 48: 143-155.
- Grala W, Buraczewska L, Wasilewko J, Verstegen MWA, Tamminga S, Jansman AJM, Huisman J, Korczynski W. 1998. Flow of endogenous and exogenous nitrogen in different segments of the small intestine in pigs fed diets with soyabean concentrate, soyabean meal or rapeseed cake. *J. Anim. Feed Sci.* 7: 1-20.
- Gray GM. 1991. Dietary protein processing: intraluminal and enterocyte surface events. En: Schultz, S. G., *The Gastrointestinal System*. Volumen IV. Maryland. Pp: 412- 413.
- Gubert VM, Sauer WC, Li S, Fan MZ. 1996. Exocrine pancreatic secretions in young pigs fed diets containing fababeans (*Vicia faba*) and peas (*Pisum sativum*): concentrations and flows of total, protein-bound and free amino acids. *J. Sci. Food Agric.* 70: 256-262.
- Guyton AC, Hall JE. 2003. *Tratado de Fisiología Médica*. 10<sup>a</sup> ed. Edit: Mc Graw-Hill. Pennsylvania, USA. Pp: 888-907.
- Hedemann MS, Hojsgaard S, Jensen BB. 2003. Small intestinal morphology and activity of intestinal peptidases in piglets around weaning. *J. Anim. Physiol. a. Anim. Nutr.* 87: 32-41.
- Hess V, Sève B. 1999. Effects of body weight and feed intake level on basal ileal endogenous losses in growing pigs. *J. Anim. Sci.* 77: 3281-3288.

- Hess V, Thibault J, Sève B. 1998. The  $^{15}\text{N}$  amino acid dilution method allows the determination of the real digestibility and of the ileal endogenous losses of the respective amino acid in pigs. *J. Nutr.* 128: 1969-1977.
- Hodgkinson SM, Souffrant WB, Moughan PJ. 2003. Comparison of the enzyme-hydrolyzed casein, guanidination, and isotope dilution methods for determining ileal endogenous protein flow in the growing rat and pig. *J. Anim. Sci.* 81: 2525-2534.
- Hofmann AF, Mysels K. 1992. Bile acid solubility and precipitation in vitro and in vivo: the role of conjugation, pH, and  $\text{Ca}^{2+}$  ions. *J. Lipid Res.* 33: 617-626.
- Jansman AJM, Smink W, van Leeuwen P, Rademacher M. 2002. Evaluation through literature data of the amount and amino acid composition of basal endogenous crude protein at the terminal ileum of pigs. *Anim. Feed Sci. and Technol.* 98: 49-60.
- Karr-Lilienthal LK, Grieshop CM, Spears JK, Patil AR, Czarnecki-Maulden GL, Merchen NR, Fajey GC. 2004. Estimation of the proportion of bacterial nitrogen in canine feces using diaminopimelic acid as an internal bacterial marker. *J. Anim. Sci.* 82:1707-1712.
- Leterme P, Sève B, Théwis A. 1998. The current  $^{15}\text{N}$ -leucine infusion technique is not suitable for quantitative measurements of ileal endogenous amino acid flows in pigs. *J. Nutr.* 128: 1961-1968.
- Leterme P. 2001. Las pérdidas endógenas hasta el ileon del cerdo. Origen, factores de variación y métodos de determinación. *Acta agronómica.* Pp: 45-54.
- Lien KA, Sauer WC, Dugan MER. 1997. Evaluation of the  $^{15}\text{N}$ -isotope dilution technique for determining the recovery of endogenous protein in ileal digesta of pigs: effect of the pattern of blood sampling, precursor pools, and isotope dilution technique. *J. Anim. Sci.* 75: 159-169.

- Low AG. 1985. Amino acid use by growing pigs. En: Endogenous gut nitrogen losses in growing pigs are not caused by increased protein synthesis rates in the small intestine (Nyachoti et al). J. Nutr. 130:566-572.
- Madara JL. 1991. Functional Morphology of the Epithelium of the Small Intestine. En: Schultz, S. G., The Gastrointestinal System. Volumen IV. Maryland. Pp: 83-87.
- Madigan MT, Martinko JM, Parker J. 2004. Biología de los Microorganismos. 10ª edición. Edit: Pearson Prentice Hall. España. Pp: 76.
- Makkink CA, Heinz T, Souffrant WB, Verstegen MWA. 1997. Endogenous N losses at the terminal ileum of young piglets fed diets based on four different protein sources. J. Anim. Feed Sci. 6: 219-234.
- Mariscal-Landin G, Reis de Souza TC, Aguilera BA. 2005. Basal ileal losses of nitrogen and amino acids in pigs fed graded levels of casein. (Datos no publicados).
- Montagne L, Toullec R, Lallès JP. 2000. Influence of dietary protein level and origin on the flow of mucin along the small intestine of the preruminant calf. J. Dairy Sci. 83: 2820-2828.
- Montagne L, Toullec R, Lallès JP. 2001. Intestinal digestion of dietary and endogenous proteins along the small intestine of calves fed soybean or potato. J. Anim. Sci. 79 :2719-2730.
- Moughan PJ, Schuttert G, Leenaars M. 1992. Endogenous amino acid flow in the stomach and small intestine of the young growing pig. J. Sci. Food Agric. 60: 437-422.
- Nyachoti CM, de Lange CFM, Schulze H. 1997. Estimating endogenous amino acid flows at the terminal ileum and true ileal amino acid digestibilities in feedtuffs for growing pigs using the homoarginine method. J. Anim. Sci. 75: 3206-3213.

- Ortíz RP. 2002. Efecto de diferentes cereales presentes en las dietas sobre los cambios morfológicos del intestino delgado en lechones. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma de Querétaro.
- Otto ER, Yokoyama M, Ku PK, Ames NK, Trottier NL. 2003. Nitrogen balance and ileal amino acid digestibility in growing pigs fed diets reduced in protein concentration. *J. Anim. Sci.* 81: 1743-1753.
- Perez-Vilar J, Hill RL. 1999. The structure and assembly of secreted mucins. *J. Biol. Chem.* 274: 31751-31754.
- Pérez JJ, Wicki GA, Moyano FJ, Alarcón FJ. 2003. Evaluación del efecto de inhibidores de proteasa presentes en ingredientes vegetales utilizables en piensos para dos especies piscícolas cultivadas en Argentina. II Congreso Virtual de Acuicultura. Pp: 442-454.
- Piel C, Montagne L, Salgado P, Lallès JP. 2004. Estimation of ileal output of gastro-intestinal glycoprotein in weaned piglets using three different methods. *Reprod. Nutr. Dev.* 44: 419-435.
- Pluske JR, Hampson DJ, William IH. 1997. Factors influencing the structure and function of the small intestine in the weaning pig: a review. *Livest. Prod. Sci.* 51: 215-236.
- Rantzer D, Kiela P, Thaela MJ, Svendsen J, Ahren B, Karlsson S, Pierzynowski SG. 1997. Pancreatic exocrine secretion during the first days after weaning in pigs. *J. Anim. Sci.* 75:1324-1331.
- Ravindran V, Hew LI, Ravindran G, Bryden WL. 2004. Endogenous amino acid flow in the avian ileum: quantification using three techniques. *Brit. J. Nutr.* 92: 217-223.
- Reis de Souza TC, Mariscal LG. 1997. El destete, la función digestiva y la digestibilidad de los alimentos en cerdos jóvenes. *Téc. Pecu. Méx.* 35: 145-159.

- Reis de Souza TC, Mar BB, Mariscal LG. 2000. Canulación de cerdos posdestete para pruebas de digestibilidad ileal: desarrollo de una metodología. *Téc. Pecu. Méx.* 38: 143-150.
- Rubio LA. 2003. Determination of diaminopimelic acid in rat feces by high-performance liquid chromatography using the pico tag method. *J. Chromatog. B* 784: 125-129.
- Salgado P, Montagne L, Freire PB, Ferreira RB, Teixeira A, Bento O, Abreu CM, Toullec R, Lallès JP. 2002. Legume grains enhance ileal losses of specific endogenous serine-protease proteins in weaned pigs. *J. Nutr.* 132: 1913-1920.
- Sauer WC, Mosenthin R, Ahrens F, den Hartog A. 1991. The effect of source of fiber on ileal and fecal amino acid digestibility and bacterial nitrogen excretion in growing pigs. *J. Anim. Sci.* 69: 4070-4077.
- Sauer WC, Fan MZ, Mosenthin R, Drochner. 2000. Methods for Measuring Ileal Amino Acid Digestibility in Pigs. En: D'Mello JPF. *Farm Animal Metabolism and Nutrition*. 1ª ed. Edit: CABI Publishing. Reino Unido. Pp: 280.
- Schulze H, van Leeuwen P, Verstegen MWA, Huisman J, Souffrant WB, Ahrens F. 1994. Effect of level of dietary neutral detergent fiber on ileal apparent digestibility and ileal nitrogen losses in pigs. *J. Anim. Sci.* 72: 2362-2368.
- Souffrant WB, Rérat A, Laplace JP, Darcy-Vrillon B, Köhler K, Corring T, Gebhardt G. 1993. Exogenous and endogenous contributions to nitrogen fluxes in the digestive tract of pigs fed casein diet. III. Recycling of endogenous nitrogen. *Reprod. Nutr. Dev.* 33:373-382.
- Steendam CA, Tamminga S, Boer H, de Jong E, Visser GH, Verstegen WA. 2004. Ileal endogenous nitrogen recovery is increased and its amino acid pattern is altered in pigs fed quebracho extract. *J. Nutr.* 134: 3076-3082.
- Steel RGD, Torrie JH. 1985. *Principles and Procedures of Statistics. A Biometrical Approach*. 2ª edición. Mc Graw-Hill.

- Stensig T, Robinson PH. 1997. Digestion and passage kinetics of forage fiber in dairy cows as affected by fiber-free concentrate in the diet. *J. Dairy Sc.* 80: 1339-1352.
- Wu G, Davis PK, Flynn NE, Knabe DA, Davidson JT. 1997. Endogenous synthesis of arginine plays an important role in maintaining arginine homeostasis on postweaning growing pigs. *J. Nutr.* 127: 2342-2349.