

COMPARACIÓN DE MÉTODOS PARA DETERMINAR EL FLUJO ILEAL DE AMINOÁCIDOS ENDÓGENOS Y LA DIGESTIBILIDAD VERDADERA DE AMINOÁCIDOS DE HARINA DE PESCADO SUMINISTRADA A RATAS

Comparison of Methods for the Determination of Ileal Endogenous Aminoacids Flow and True Aminoacids Digestibility in Fishmeal Feeding to Rats

Lourdes Gutiérrez-Coronado, Leticia García-Rico, Francisco Vázquez-Ortiz y Saúl Ahumada Montoya

Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Carretera a la Victoria Km. 0.6, Apartado Postal 1735. Hermosillo, Sonora, México. C.P. 83000. Tel (662) 2 89 24 00 ext 292, Fax (662) 2 50 80 00. E-mail: lulu@cascabel.ciad.mx

RESUMEN

El flujo ileal de aminoácidos endógenos (FIAE) fue determinado alimentando ratas (*Rattus norvegicus*) con dos dietas: una dieta libre de nitrógeno (LN) y otra dieta a base de caseína hidrolizada enzimáticamente (CHE) como única fuente de nitrógeno. Para determinar la digestibilidad ileal verdadera de aminoácidos (AA) las ratas fueron alimentadas con una dieta a base de harina de pescado (HP). Se utilizaron 27 ratas macho Sprague-Dawley de 100 ± 5 g de peso inicial promedio divididas en tres grupos de nueve, confinadas individualmente bajo condiciones controladas. Las dietas se ofrecieron por tres horas (8:30-11:30 a.m.). Al término del experimento las ratas fueron sacrificadas para remover 20 cm de íleon terminal. La digesta ileal de las ratas alimentadas con CHE se liofilizó y ultrafiltró. El precipitado más el retenido o concentrado (fracción de alta masa molecular) obtenido de la ultrafiltración (UF) fueron utilizados para determinar el flujo endógeno. El FIAE para las ratas alimentadas con CHE fue mayor que para las alimentadas con la dieta LN ($P < 0.05$), con excepción de alanina. El alimentar con una dieta LN, por si mismo, no tiene influencia en el FIAE de la rata, pero hay un efecto directo de los péptidos pequeños en la pérdida neta de AA endógenos en el intestino delgado. La producción de estos AA es variable y depende de varios factores, entre los que destaca el peso corporal de las ratas. En este estudio se utilizaron ratas de menor peso y para ambas dietas se obtuvieron valores más bajos de flujo ileal a los reportados. La digestibilidad ileal verdadera de AA de HP determinada con la dieta LN fue más baja que la deter-

minada con la técnica de CHE-UF. Esta técnica se considera una buena alternativa al método clásico de la dieta LN, para la determinación rutinaria de flujo ileal endógeno.

Palabras clave: Flujo ileal, aminoácidos endógenos, dieta libre de nitrógeno, caseína hidrolizada enzimáticamente, ultrafiltración, ratas.

ABSTRACT

Endogenous ileal aminoacid flow was determined feeding rats (*Rattus norvegicus*) two diets: one nitrogen free diet (NF) and another diet based in enzymically hydrolyzed casein (EHC) as the sole nitrogen source. To estimate the true ileal AA digestibility the rats were fed a fishmeal (FM) based diet. Twenty seven Sprague-Dawley male rats with an average initial weight of 100 ± 5 g divided into three groups of nine rats were used, which were individually allocated under control conditions. The diets were offered for three hours (08:30-11:30 a.m.). The rats were sacrificed to remove 20 cm of terminal ileum. The ileal digesta of rats fed EHC were lyophilized and ultrafiltrated. The precipitate plus retentate (high molecular weight fraction) were used for the determination of ileal endogenous flow. The endogenous flow of AA for EHC fed rats was higher than for the nitrogen-free diet ($P < 0.05$), excluding alanine. The protein deplete state per se does not influence endogenous aminoacid flow at the terminal ileum of the rat, but there is a direct effect of small peptides on the net loss of endogenous AA from the small intestine. The endogenous flow of AA determined for both diets was lower than values reported in literature, which could be associated to the lower liveweight of the rats used in this study. The true ileal AA digestibility determined with the ni-

trogen free diet was lower than the correspondent values obtained with the EHC diet. The EHC-UF technique is considered a good alternative to the classic method for the determination of endogenous ileal flow.

Key words: Ileal flow, aminoacids, nitrogen free diet, enzymatically hydrolyzed casein, protein-free, ultrafiltration, rats.

INTRODUCCIÓN

El valor nutricional de un ingrediente para animales puede ser determinado por su contenido de nutrientes disponibles, en especial por su aporte de aminoácidos (AA) y energía [20]. La digestibilidad ileal de los AA es uno de los factores más importantes para calificar la calidad de la dieta y la respuesta productiva de los animales; la cual desde hace años se ha determinado en animales monogástricos a través del muestreo del contenido ileal [13].

Los valores de digestibilidad ileal pueden ser expresados como aparentes o verdaderos. En la determinación del valor aparente no se toma en cuenta la pérdida endógena de nitrógeno, por lo que se subestima la cantidad de AA absorbidos durante la digestión [2]. Al tomar en cuenta el componente endógeno la digestibilidad ileal se transforma en verdadera, siendo ésta el mejor parámetro para representar los AA absorbidos en el tracto digestivo [6].

El nitrógeno secretado endógenamente es sometido al proceso de digestión junto con el nitrógeno dietario, y sus productos son reabsorbidos. Se ha estimado que del 70 al 80% se reabsorbe antes del íleon terminal [15]. La proporción de las secreciones endógenas que no son reabsorbidas son excretadas por el animal y constituyen las pérdidas de nitrógeno endógeno, representando alrededor del 25% del total de las secreciones endógenas proteicas. El flujo de AA recolectados al final del intestino delgado se considera como la pérdida de AA endógenos, ya que representa a los AA que no fueron absorbidos y por tanto no se utilizaron en la síntesis de proteínas. Además la absorción de los AA que fluyen al intestino grueso es muy pequeña y sin utilidad para el animal [14]. Los AA de origen endógeno provienen principalmente de enzimas, albúminas séricas, mucoproteínas, células descamadas, péptidos y AA secretados en la lumen intestinal, así como pelo consumido del mismo animal [18].

El método tradicional conocido como método LN para la determinación del flujo ileal de AA, consiste en suministrar una dieta que contiene poco o nada de ingredientes proteicos. Este método considera que la cantidad de proteína en la dieta no tiene efecto en la determinación de las secreciones endógenas [12]. Sin embargo, la ausencia de proteína en la dieta tiene como consecuencia que no se estimule la actividad fisiológica en el intestino, lo cual puede afectar al metabolismo normal de las proteínas dietarias, reduciéndose la secreción de com-

puestos nitrogenados en el lumen intestinal y subestimando la concentración de pérdida endógena [6]. El método tradicional es todavía una técnica útil para estudiar el efecto de factores dietarios diferentes a las proteínas en los niveles de AA endógenos ileales, pero es cuestionable si los resultados obtenidos con esta técnica son válidos para estudios de digestibilidad ileal verdadera de AA [9].

Se han desarrollado nuevas metodologías que permiten determinar las pérdidas endógenas de nitrógeno; tales como la del isótopo N^{15} [7, 15], la de la homocisteína [12], la del C^{13} [2] y la de la alimentación peptídica acoplada a ultrafiltración [12]. En este estudio se empleará la técnica de la caseína hidrolizada enzimáticamente acoplada a ultrafiltración (CHE-UF), la cual permite medir el flujo de AA endógenos en el íleon bajo condiciones fisiológicamente normales, ya que se suministran AA libres y péptidos (masa molecular < 2000 Da), simulando los productos de digestión de una dieta normal. La proteína endógena se separa de los péptidos dietarios no digeridos por ultrafiltración y la fracción de masa molecular alta (> 10000 Da) es un estimado de las pérdidas de AA endógenos [3]. Se ha reportado que el método de la CHE-UF genera estimados de pérdidas endógenas aplicables solo para la corrección de flujos ileales de fuentes proteicas de origen animal las cuales no contienen fibra o factores antinutricionales [8], por lo que para este estudio se seleccionó la HP. Los objetivos del estudio fueron: 1) Comparar el FIAE determinado por el método tradicional de la dieta LN y el de alimentación peptídica y 2) Determinar la digestibilidad ileal verdadera de AA de HP suministrada a ratas.

MATERIALES Y MÉTODOS

El bioensayo se llevó a cabo en el bioterio del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. localizado en Hermosillo, Sonora, México, de acuerdo a los lineamientos acerca del cuidado y uso de animales de experimentación, estipulado por el Comité de Ética de la Institución.

Selección y confinamiento de los animales

Se utilizaron veintisiete ratas (*Rattus norvegicus*) macho Sprague-Dawley de aproximadamente 100 ± 5 g de peso inicial, divididas aleatoriamente en tres grupos de 9 animales. Las ratas fueron destetadas a las 4 semanas de edad y criadas con una dieta de alta calidad hasta su alojamiento en el bioterio. Los animales se confinaron individualmente en jaulas de acero inoxidable con piso de malla de alambre a una temperatura ambiente de $20 \pm 2^\circ\text{C}$, humedad relativa de 65-70% y con un ciclo de luz oscuridad de 12 h.

Dietas y alimentación de animales

Las dietas se formularon a base de CHE y HP como única fuente proteica, a una concentración del 12%. Se formuló además una dieta LN. A las tres dietas se les añadió 0,2% de óxido de cromo como marcador indigestible (TABLA 1). Las ra-

tas fueron alimentadas con una dieta de alta calidad por tres días para su adaptación y fueron entrenadas para consumir alimento por un período de 3 h (8:30-11:30 A.M.) durante 7 días. Posteriormente se suministraron las dietas experimentales, las cuales se ofrecieron *ad libitum* y el agua estuvo siempre disponible.

Administración de las dietas

Se seleccionaron nueve ratas al azar y se les alimentó con una dieta a base de caseína (10% de proteína cruda) por un periodo preliminar de 12 días, seguida por una dieta a base de CHE por 4 días. A otras nueve ratas se les ofreció una dieta estándar a base de caseína por 10 días, seguida por una dieta LN por 6 días. A las nueve ratas restantes se les dio una dieta a base de HP por 16 días.

Obtención de la muestra

Al término del suministro de las dietas experimentales, las ratas fueron anestesiadas con cloroformo confinadas en un desecador. Se abrió la cavidad abdominal para identificar la parte final del intestino delgado (íleon) y remover la digesta por resección de un segmento de 20 cm a partir de la válvula íleo-cecal, por perfusión intraluminal con agua destilada. Las muestras fueron secadas en un liofilizador de charolas, se maceraron en un mortero y se congelaron a -20°C . Se combinaron las digestas ileales de tres ratas, conformándose 3 muestras de CHE, 3 muestras de LN y 3 muestras de HP, de tal forma que se obtuvieron 9 muestras de íleon para analizar.

Tratamiento de la digesta ileal

Las tres digestas que se obtuvieron de las ratas alimentadas con la dieta a base de CHE, fueron separadas, se les midió el volumen y posteriormente fueron transferidas a tubos para centrifuga. Las digestas se centrifugaron a $1400 \times g$ por 45 min a 0°C . El precipitado fue lavado con buffer de fosfato (0,02M, pH 7,2) y centrifugado bajo las mismas condiciones. Los lavados fueron combinados con el sobrenadante, los cuales fueron sometidos a ultrafiltración utilizando membranas

de separación Amicon de 50 ml con un límite de exclusión de masa molecular de 10.000 Da. El filtrado se descartó y el concentrado o retenido (la fracción de masa molecular alta) se lavó y se sometió a una segunda ultrafiltración. El total de precipitado más el retenido fueron liofilizados, molidos finamente y almacenados a -20°C para la determinación de cromo y AA. Este proceso de ultrafiltración proporcionó la separación molecular de los AA libres y los péptidos de masa molecular < 2000 Da, de las proteínas endógenas no digeridas de masa molecular > 10000 Da [3, 9].

Las digestas obtenidas de las ratas alimentadas con la dieta LN y con la dieta de HP fueron liofilizadas, molidas y almacenadas a -20°C para sus posteriores análisis químicos.

Análisis químicos

A las muestras de digesta ileal, así como a las dietas ofrecidas se les determinó: óxido de cromo por espectroscopia de absorción atómica (espectrómetro Varian Spectra AA-20), lámpara de cátodo hueco para cromo, $\lambda = 357,9$ nm y flama de aire/acetileno, previa digestión de las muestras por energía de microondas a un rango del 80 al 100% a 90 Psi por 55 minutos. Aminoácidos por cromatografía líquida de alta resolución (cromatógrafo Varian 9010), columna microsorb RP-C18 ($10 \times 4,6$ mm), detector de fluorescencia a $\lambda = 340$ nm (excitación) y 455 nm (emisión), fase móvil de metanol, acetato de sodio pH=2,2 y tetrahidrofurano al 1%, previa hidrólisis ácida (HCl 6N) de las muestras [10].

Para calcular la digestibilidad ileal verdadera de AA se utilizó la siguiente ecuación:

- Digestibilidad ileal verdadera de AA = Digestibilidad aparente $\pm$ (Flujo ileal de AA endógenos / AA en dieta) $\times 100$ [3, 9].
- Digestibilidad Aparente = $1 - (\text{cromo en dieta} \times \text{AA en íleon} / \text{AA en dieta} \times \text{cromo en íleon})$ [10].

El flujo ileal de AA endógenos se calculó usando la siguiente ecuación:

TABLA I
COMPOSICIÓN DE LAS DIETAS EXPERIMENTALES (g Kg^{-1} , BASE SECA)

Ingredientes	Composición		
	CHE	LN	HP
Almidón de maíz	633	733	633
Celulosa purificada	50	50	50
Aceite de maíz	65	65	65
Sucrosa	100	100	100
Vitaminas y minerales	50	50	50
Óxido de cromo	2	2	2
CHE	100	-	-
Harina de pescado	-	-	100

CHE: Caseína hidrolizada enzimáticamente. LN: Libre de nitrógeno. HP: Harina de pescado.

- Flujo ileal de AA endógenos = Concentración de AA en digesta ileal $\times$ (Cromo en dieta/Cromo en ileon) [3, 9].

Se aplicó la fórmula anterior a las muestras obtenidas del bioensayo con ratas alimentadas con CHE y de ratas alimentadas con dieta LN.

El flujo de AA endógenos para las ratas alimentadas con CHE se calculó basándose en el contenido de AA del precipitado más la fracción de masa molecular alta, seguida de centrifugación más el tratamiento de ultra filtración, y para la digesta total se incluyeron los AA del sobrenadante ultrafiltrado.

Análisis estadístico

Se usó un modelo estadístico lineal y se probó la hipótesis de si hay o no diferencia en el flujo ileal de aminoácidos endógenos determinado por el método de la dieta LN y el método de alimentación peptídica. A los resultados obtenidos se les realizó un análisis descriptivo y se sometieron a un análisis de varianza. Los valores de las medias se sometieron a una prueba Tukey-Duncan con un nivel de significancia de 0,05. Para el análisis de los datos se utilizó el programa estadístico NCSS versión 6,0 (Number Cruncher Statistical System for Windows, Kaysville, Utah).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este estudio la estimación del flujo ileal de aminoácidos endógenos determinado por la presencia de péptidos dietarios se comparó con el obtenido de ratas alimentadas con una dieta LN. La obtención de la digesta ileal se realizó antes del sacrificio de las ratas, a través de la remoción de una sección del intestino delgado distal del animal anestesiado, y una colección manual del contenido. Este procedimiento tiene la ventaja de simplicidad y de aceptabilidad desde el punto de vista ético en comparación a otros métodos, y existe una mínima interferencia con el tracto digestivo del animal antes del muestreo [12].

El flujo ileal de aminoácidos endógenos (FIAE) (ig/g materia seca) determinado por el método de la dieta LN y por el método de la CHE-UF se muestra en la TABLA II. El FIAE de las ratas alimentadas con la dieta LN fue significativamente más bajo ($P < 0,05$) que el correspondiente FIAE de las ratas alimentadas con la dieta a base de CHE, lo cual ya ha sido reportado en otros estudios [3, 6, 8, 16, 18], con excepción de alanina [21]. La razón de porqué el flujo endógeno de alanina es más alto en el ileon de ratas alimentadas con la dieta LN no se conoce. Se podría asociar a una mayor secreción de jugo pancreático e intestinal en la dieta LN, los cuales son ricos en alanina [6]. Además, los animales alimentados con una dieta LN pueden movilizar proteínas corporales, especialmente proteínas musculares, para suministrar AA para funciones vitales metabólicas y la alanina aunada a la glutamina contribuyen con más del 50% del total de los AA liberados del tejido muscular [7, 22]. El decremento en el flujo ileal endógeno del resto de los AA con la dieta LN, probablemente se asocie a la supre-

TABLA II
FLUJO ILEAL DE AMINOÁCIDOS ENDÓGENOS DETERMINADO POR LOS MÉTODOS CHE-UF Y DIETA LIBRE DE NITRÓGENO ($\mu\text{g/g}$ MATERIA SECA)

AA	CHE ($\bar{X} \pm \text{DE}$)	LN ($\bar{X} \pm \text{DE}$)
Ac. Aspártico	366 $\pm$ 8,10 ^a	254 $\pm$ 2,88 ^b
Ac. Glutámico	580 $\pm$ 17,52 ^a	291 $\pm$ 4,72 ^b
Serina	202 $\pm$ 6,35 ^a	131 $\pm$ 7,50 ^b
Histidina	92 $\pm$ 8,71 ^a	78 $\pm$ 6,88 ^b
Glicina	276 $\pm$ 32,90 ^a	275 $\pm$ 2,30 ^a
Treonina	220 $\pm$ 17,05 ^a	166 $\pm$ 4,61 ^b
Arginina	101 $\pm$ 9,84 ^a	109 $\pm$ 5,29 ^a
Alanina	117 $\pm$ 4,72 ^a	145 $\pm$ 7,50 ^b
Tirosina	170 $\pm$ 13,85 ^a	118 $\pm$ 3,46 ^b
Metionina	57 $\pm$ 6,50 ^a	41 $\pm$ 4,04 ^b
Valina	142 $\pm$ 5,56 ^a	95 $\pm$ 7,00 ^b
Fenilalanina	83 $\pm$ 9,84 ^a	72 $\pm$ 7,02 ^a
Isoleucina	138 $\pm$ 9,07 ^a	83 $\pm$ 6,92 ^b
Leucina	155 $\pm$ 1,15 ^a	132 $\pm$ 2,88 ^b
Lisina	102 $\pm$ 6,65 ^a	67 $\pm$ 1,15 ^b

CHE: Caseína hidrolizada enzimáticamente. LN: Libre de nitrógeno. n = 3. ^{a,b} Letras distintas en una misma fila difieren significativamente ($P < 0,05$).

sión de pérdidas endógenas específicas, más que a la deficiencia de AA en la dieta [11]. La retención negativa de nitrógeno resultante del consumo de una dieta LN reduce marcadamente la excreción ileal de nitrógeno. Además, la ausencia de proteína en el alimento disminuye las secreciones y no hay factores que estimulen su producción o impidan su reabsorción por la pared intestinal [16], ya que la capacidad absorbiva de los AA en el intestino delgado es afectada por el contenido de proteína en la dieta [7]. El intestino delgado responde a una ingesta reducida de proteína incrementando la absorción intestinal de AA [4]. Una alimentación LN, no incrementa la excreción ileal de AA, indicando que no son los AA libres sino la proteína y los péptidos los que tienen influencia directa en la excreción ileal endógena [7]. Los flujos ileales endógenos encontrados en este estudio para las ratas alimentadas con CHE, fueron más altos que los de las ratas alimentadas con la dieta LN. Estos resultados son también una evidencia de que los péptidos suministrados ya sea como tales o derivados de la digestión natural de las proteínas dietarias, tienen influencia en la pérdida endógena de AA del tracto digestivo [6, 8].

Método de CHE-UF

Los FIAE determinados en el presente estudio empleando el método de CHE-UF fueron más bajos que los reportados [3, 8]. Se encontró que de los AA esenciales, treonina (7,85%) y tirosina (6,06%) son los que contribuyen en mayor propor-

ción al flujo total y el ácido glutámico es el AA no esencial de mayor contribución, representando alrededor del 21% del flujo total de aminoácidos, seguido por el ácido aspártico (13%) y la glicina (9,85%). En contraste, la fenilalanina y la metionina son los AA que contribuyen en menor proporción, representando cada uno alrededor del 2% del flujo total.

Método dieta libre de nitrógeno

Los FIAE determinados en este estudio con la dieta LN fueron más bajos que los reportados [3, 6, 8, 23]. Se encontró que de los aminoácidos esenciales la treonina (8,07%) y la leucina (6,41%) son los que contribuyen en mayor proporción al flujo total y también el ácido glutámico es el aminoácido no esencial de mayor contribución (14,14%), seguido de glicina (13,36%) y ácido aspártico (12,34%). Metionina y lisina son los aminoácidos que contribuyen en menor proporción con 2 y 3,25% respectivamente.

La diferencia en abundancia entre los AA endógenos en la digesta ileal se debe principalmente a la diferencia en sus concentraciones en las diversas secreciones endógenas en el tracto digestivo. Las secreciones del intestino delgado las cuales incluyen mucinas, proveen la proporción más grande de las secreciones endógenas de nitrógeno [5]. La mucina nativa, que representa más del 95% de la glicoproteína de mucina es muy rica en aspártico, glutámico y treonina [19], mientras que el jugo pancreático muestra gran abundancia de ácido aspártico, ácido glutámico y leucina, y las glicoproteínas excretadas

por las sales biliares y la saliva, contienen grandes cantidades de prolina y glicina [5]. En este estudio, los flujos ileales de ácido glutámico, ácido aspártico y glicina, determinados para ambas dietas, fueron los de mayor contribución al flujo total, lo cual coincide con lo reportado por otros autores [3, 6, 8, 23] y representan alrededor del 40% del flujo total.

Los valores más bajos que los reportados por la literatura de los FIAE determinados por ambos métodos, pueden asociarse a un decremento de la secreción en el tracto digestivo o a un incremento en la eficiencia de reabsorción. También se puede asociar al peso vivo de los animales experimentales; en este estudio se utilizaron ratas de un peso inicial promedio de 100 g en comparación al de otros estudios que emplearon animales de un peso inicial promedio de 190 g. Al respecto, Hess y Séve [11], demostraron que el peso tiene un efecto significativo en la pérdida de AA endógenos de cerdos en crecimiento. Las diferencias observadas en la contribución de cada AA en el flujo total constituyen un argumento adicional para preferir la determinación de la digestibilidad verdadera en lugar de la aparente.

Digestibilidad verdadera

Los flujos ileales endógenos de AA determinados por ambos métodos se utilizaron para calcular los coeficientes de digestibilidad ileal verdadera de AA de HP y fueron comparados con sus digestibilidades aparentes correspondientes (TABLA III). Los coeficientes de digestibilidad ileal verdaderos fue-

TABLA III

DIGESTIBILIDAD ILEAL APARENTE Y DIGESTIBILIDAD ILEAL VERDADERA DE AMINOÁCIDOS DE HARINA DE PESCADO DETERMINADA POR LOS MÉTODOS CHE-UF Y DIETA LIBRE DE NITRÓGENO (%)

AA	Aparente HP	Verdadera LN	Verdadera CHE-UF	Verdadera (Literatura) LN
Ac. Aspártico	77	85	88	88 ²
Ac. Glutámico	86	89	92	94 ²
Serina	91	97	100	91 ²
Histidina	90	97	99	89 ²
Glicina	70	94	94	89 ²
Treonina	74	84	87	87 ¹ , 92 ²
Arginina	89	96	95	92 ¹ , 94 ²
Alanina	92	101	99	92 ²
Tirosina	91	96	99	92 ²
Metionina	94	98	100	92 ¹ , 93 ²
Valina	89	93	95	89 ¹ , 92 ²
Fenilalanina	96	99	100	92 ²
Isoleucina	90	93	96	91 ¹ , 93 ²
Leucina	91	94	95	91 ¹ , 94 ²
Lisina	93	95	97	90 ¹ , 93 ²

1: Mariscal y col. [17]. 2: AFZ y col. [1]. HP: Harina de pescado. LN: Libre de nitrógeno. CHE-UF= Caseína hidrolizada enzimáticamente-ultrafiltración.

ron más altos que los correspondientes coeficientes aparentes y fue particularmente marcado para glicina y treonina. Los valores de digestibilidad ileal verdadera determinados con el Método de la Dieta LN fueron más bajos que los determinados con el Método de la CHE-UF con excepción de alanina. La digestibilidad ileal verdadera de alanina determinada por el método de la dieta LN excedió el 100%, indicando que los niveles endógenos de alanina fueron sobreestimados. La digestibilidad ileal verdadera más baja determinada por ambos métodos (LN, CHE) fue particularmente marcada para ácido aspártico (85 y 88%), ácido glutámico (89, 92%) y treonina (84 y 87%), lo cual coincide con lo reportado por Donkoh y col. [8] para leche descremada. Los valores de digestibilidad ileal verdadera se compararon con datos reportados para HP [1,17], los cuales se obtuvieron con valores de flujo ileal de AA endógenos determinados alimentando cerdos con una dieta LN. Para algunos AA los valores fueron más altos que los reportados, lo que es un reflejo de los valores más bajos del flujo ileal de AA endógenos obtenidos en este estudio. No se encontraron reportes en la literatura de digestibilidad ileal verdadera de AA en HP empleando la metodología de alimentación peptídica para determinar el flujo ileal de AA endógenos. El método para determinar el flujo ileal de AA endógenos tiene una gran influencia para el valor resultante del coeficiente de digestibilidad ileal verdadero para ingredientes utilizados en nutrición animal.

CONCLUSIONES

El método tradicional de alimentar con una Dieta LN para determinar el flujo ileal de AA endógenos en la rata, conlleva a una considerable subestimación de la pérdida endógena. Los flujos ileales de AA endógenos obtenidos después de alimentar a los animales con la dieta a base de CHE, evidencia que la presencia de péptidos dietarios y proteínas en el intestino incrementa la excreción de AA endógenos en el íleon terminal de la rata. La producción de estos AA es variable y depende de varios factores, entre los que destaca el peso corporal de las ratas. En este estudio se utilizaron ratas de menor peso que en los trabajos consultados de la literatura y se obtuvieron valores más bajos de flujo ileal a los reportados.

El alimentar a los animales con una dieta basada en CHE seguido por centrifugación y ultrafiltración de la digesta ileal, se puede considerar como un mejor método para determinar el flujo endógeno de AA en el íleon de la rata. Sin embargo, el coeficiente de digestibilidad ileal verdadero de algunos AA de la HP analizada en este estudio, fue sobreestimado como consecuencia de los valores más bajos del flujo ileal de AA endógenos. Se sugiere realizar más estudios empleando ratas de mayor peso y la evaluación de otros ingredientes proteicos de origen animal.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ASSOCIATION FRANCAISE DE ZOOTECHNIE AFZ, Ajinomoto Eurolysine, Aventis Animal Nutrition, Inra (Institut National de la Recherche Agromique), Itcf (Institut Technique Des Cereals et des Fourrages). **AmiPig: Ileal standardised digestibility of aminoacids in feedstuffs for pigs**. 24 pp. 2000.
- [2] ARENTSON, R.A.; ZIMMERMAN, D.R. True digestibilities of amino acids and protein in pigs using C¹³ as a label to determine metabolic amino acid excretion. **J. Anim. Sci.** 70 (Suppl. 1): 68. 1992.
- [3] BUTTS, C.A.; MOUGHAN, P.J.; SMITH, W.C. Endogenous amino acid flow at the terminal ileum of the rat determined under conditions of peptide alimentation. **J. Sci. Food Agric.** 55: 175-187. 1991.
- [4] CHRISTENSEN, H.N. The regulation of amino acid and sugar absorption by diet. **Nutr. Rev.** 42: 237-242. 1984.
- [5] CORRING, T.; JUNG, J. The amino acid composition of pig pancreatic juice. **Nutr. Rep. Intern.** 6: 187-198. 1972.
- [6] DARRAGH, A.J.; MOUGHAN, P.J.; SMITH, W.C. The effect of amino acid and peptide alimentation on the determination of endogenous amino acid flow at the terminal ileum of the rat. **J. Sci. Food Agric.** 51: 47-56. 1990.
- [7] De LANGE, C.F.M.; SAUER, W.C.; SOUFFRANT, W.B. The effect of protein status of the pig on the recovery and amino acid composition of endogenous protein in digesta collected from the distal ileum. **J. Anim. Sci.** 67: 755-762. 1989.
- [8] DONKOH, A.; MOUGHAN, P.J.; MOREL, P.C.H. Comparison of methods to determine the endogenous amino acid flow at the terminal ileum of the growing rat. **J. Sci. Food Agric.** 67: 359-366. 1995.
- [9] FAN, M.Z.; SAUER, W.C.; MCBURNEY, M.I. Estimation by regression analysis of endogenous amino acid levels in digesta collected from the distal ileum of pigs. **J. Anim. Sci.** 73: 2319-2328. 1995.
- [10] GUTIÉRREZ-CORONADO, L.; GARCÍA-RICO, L.; VÁZQUEZ-ORTÍZ, F.; SAAVEDRA-INSUNZA, B. Digestibilidad aparente ileal y fecal de aminoácidos de harina de semilla de algodón en cerdos. **Rev. Científ FCV-LUZ.** XIII (6): 452-459. 2003.
- [11] HESS, V.; SÉVE, B. Effects of body weight and feed intake level on basal ileal endogenous losses in growing pigs. **J. Anim. Sci.** 77: 3281-3288. 1999.
- [12] HODGKINSON, S.M.; SOUFFRANT, W.B.; MOUGHAN, P.J. 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. 2003.
- [13] JORGENSEN, H.; SAUER, W.C.; THACKER, P.A. Amino acid availabilities in soybean meal, sunflower meal, fishmeal and meat and bone meal fed to growing pigs. **J. Anim. Sci.** 58: 596-604. 1984.
- [14] JUST, A.; JORGENSEN, H.; FERNANDEZ, J.A. The digestive capacity of the caecum-colon and the value of the nitrogen absorbed from the hindgut for protein synthesis in pigs. **Brit. J. Nutr.** 46: 209-219. 1981.
- [15] KRAWIELITZKI, K.; KREIENBRING, F.; ZEBROWSKA, T.; SCHADEREIT, R.; KOWALCZYK, J. Estimation of N absorption, secretion, and reabsorption in different intestinal sections of growing pigs using the ^{15}N isotope dilution method. **Proc. 6th International Symposium on Digestive Physiology in Pigs.** W.B. Souffrant and H. Hagemeister, (Eds). Bad Doberan, Danmar. 10/4-6. 80:79-82. 1994.
- [16] LETERME, P.; MONMART, T. THEWIS, A.; MORANDI, P. Effect of oral and parenteral N nutrition vs N-free nutrition on the endogenous amino acid flow at the ileum of the pig. **J. Sci. Food Agric.** 71: 265-271. 1996.
- [17] MARISCAL, G.; AVILA, E.; TEJADA DE H, I.; CUARON, J. A.; VÁZQUEZ, C. Contenido de aminoácidos totales y digestibles verdaderos para cerdos. **Tablas INIFAP-PRODUCE (Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias).** 1-2 pp. 1995.
- [18] MOUGHAN, P.J.; BUTTERY, P.J.; ESSEX, C.P.; SOAR, J.B. Evaluation of the isotope dilution technique for determining ileal endogenous nitrogen excretion in the rat. **J. Sci. Food Agric.** 58: 165-172. 1992.
- [19] NEUTRA, M.R.; FORSTNER, J.P. Gastrointestinal mucus: synthesis, secretion and function. In: **Physiology of the Gastrointestinal Tract.** L.R. Johnson (Ed.). Raven Press, New York, N.Y. 975-1009 pp. 1987.
- [20] NYACHOTI, C. M.; DE LANGE, C.F.M.; McBRIDE, B.W.; SCHULZE, H. Significance of endogenous gut nitrogen losses in the nutrition of growing pigs: A review. **Can. J. Anim. Sci.** 77: 149-163. 1997.
- [21] OTTO, E.R.; YOKOYAMA, M.; KU, P.K.; AMES, N.K.; TROTTIER, N.L. Nitrogen balance and ileal amino acid digestibility in growing pigs fed diets reduced in protein concentration. **J. Anim. Sci.** 81: 1743-1753. 2003.
- [22] RODWELL, V.W. Catabolism of the carbon skeletons of amino acids. In: **Harper's Review of Biochemistry.** 20th Ed. Lange Medical Publications, Los Altos, California. 293-318 pp. 1985
- [23] SKILTON, W.C.; MOUGHAN, P.J.; SMITH, W.C. The determination of endogenous amino acid flow at the terminal ileum of the rat. **J. Sci. Food Agric.** 44: 227-235. 1988.