

**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BAJA CALIFORNIA**

**INSTITUTO DE CIENCIAS AGRICOLAS**



**Nivel de proteína en la dieta en lechones destetados: comportamiento productivo e interacción entre la función digestiva y la formación de metabolitos microbianos en ileon terminal y ciego**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:**

**DOCTOR EN CIENCIAS AGROPECUARIAS**

**PRESENTA:**

**BENEDICTO ALFONSO ARAIZA PIÑA**

**DIRECTOR DE TESIS:**

**Ph. D. MIGUEL CERVANTES RAMIREZ**

**MEXICALI, DICIEMBRE DEL 2006**

La presente tesis titulada “**Nivel de proteína en la dieta en lechones destetados: comportamiento productivo e interacción entre la función digestiva y la formación de metabolitos microbianos en ileon terminal y ciego**”, realizada por el M.C. Benedicto Alfonso Araiza Piña; fue dirigida y asesorada por el Ph. D. Miguel Cervantes Ramírez, siendo aceptada, revisada y aprobada por el Consejo Particular abajo indicado, como requisito parcial para obtener el grado de:

## **DOCTORADO EN CIENCIAS AGROPECUARIAS**

### **Consejo Particular**

**PRESIDENTE**

---

Dr. Miguel Cervantes Ramírez

**SINODAL**

---

Dr. Willem Cornelis Sauer

**SINODAL**

---

Dra. Noemi Guadalupe Torrentera Olivera

**SINODAL**

---

Dra. Adriana Morales Trejo

**SINODAL**

---

Dr. José Luis Figueroa Velasco

**“POR LA REALIZACION PLENA DEL HOMBRE”**

# Dedicatoria

# Agradecimientos

## CONTENIDO

Consejo Particular .....	i
CONTENIDO .....	iv
INDICE DE CUADROS .....	vi
<b>Introducción</b> .....	1
<b>Experimento 1</b> .....	3
Efecto del nivel de proteína en la dieta sobre la digestibilidad ileal aparente de proteína y aminoácidos, y la formación de metabolitos microbianos en Ileon distal en lechones .....	3
<b>RESUMEN:</b> .....	4
<b>ABSTRACT</b> .....	6
<b>Materiales y Métodos</b> .....	7
<i>Animales, alojamiento, y procedimiento experimental</i> .....	7
<i>Dietas experimentales y alimentación</i> .....	8
<i>Colecta de muestras</i> .....	9
<i>Análisis químico</i> .....	9
<i>Cálculos y Análisis Estadísticos</i> .....	11
<b>Resultados y discusión</b> .....	12
<i>Análisis de las dietas y Salud Animal</i> .....	12
<i>Digestibilidad ileal aparente de proteína cruda y aminoácidos</i> .....	13
<i>pH y concentraciones de Amoníaco, AGV y aminos en digesta ileal</i> .....	14
<b>Implicaciones</b> .....	17
<b>Literatura Citada</b> .....	18
<b>Experimento 2</b> .....	26
Efecto del nivel de proteína sobre la interacción entre funciones digestivas y formación de metabolitos microbianos en el ciego de lechones.....	26
<b>RESUMEN:</b> .....	27
<b>ABSTRACT</b> .....	28
<b>Materiales y métodos</b> .....	29
<i>Animales, alojamiento y procedimiento del experimento</i> .....	29
<i>Dietas experimentales y alimentación</i> .....	30
<i>Colecta de muestras</i> .....	31
<i>Análisis químico</i> .....	31
<i>Análisis Estadísticos</i> .....	33
<b>Resultados y discusión</b> .....	34
<i>Análisis de las Dietas y Salud Animal</i> .....	34
<b>Implicaciones</b> .....	38
<b>Literatura Citada</b> .....	39

<b>Experimento 3</b> .....	45
Desempeño de lechones recién destetados alimentados con dietas alta o baja en proteína adicionadas con aminoácidos limitantes .....	45
<b>RESUMEN:</b> .....	46
<b>ABSTRACT:</b> .....	47
<b>Materiales y Métodos</b> .....	48
<i>Animales, alojamiento, y procedimiento experimental</i> .....	48
<i>Dietas experimentales y alimentación</i> .....	48
<i>Mediciones</i> .....	49
<i>Análisis Químicos y Estadísticos</i> .....	49
<b>Resultados y discusión</b> .....	51
<i>Análisis de dietas y salud animal</i> .....	51
<i>Desempeño de los lechones</i> .....	51
<b>Implicaciones</b> .....	53
<b>Literatura Citada</b> .....	54
<b>Literatura Citada Introducción</b> .....	59

## INDICE DE CUADROS

	Pag.
<b>1.1.</b> Composición de las dietas experimentales, tal como se ofrece.....	22
<b>1.2.</b> Composición analizada de las dietas experimentales.....	23
<b>1.3.</b> Efecto del nivel de PC en la dieta en DIA (%) de PC y AA de las dietas experimentales.....	24
<b>1.4.</b> Efecto del nivel de PC en la dieta sobre el pH y concentración de N amoniacal en la digesta ileal de lechones.....	25
<b>1.5.</b> Efecto del nivel de proteína en la dieta sobre las concentraciones de AGV en la digesta ileal en lechones.....	25
<b>1.6.</b> Efecto del nivel de PC sobre la concentración de aminos en la digesta ileal de lechones recién destetados.....	25
<b>2.1.</b> Composición de las dietas experimentales, tal como se ofrece.....	42
<b>2.2.</b> Composición analizada de las dietas experimentales.....	43
<b>2.3.</b> Efecto del contenido de proteína en la dieta sobre el pH y la concentración de N amoniacal en la digesta cecal de lechones.....	44
<b>2.4.</b> Efecto del contenido de proteína en la dieta sobre la concentración de ácidos grasos volátiles en la digesta cecal de lechones.....	44
<b>2.5.</b> Efecto del contenido de proteína en la dieta sobre las concentraciones de amidas seleccionadas en la digesta cecal de lechones.....	44
<b>3.1.</b> Composición de las dietas experimentales, tal como se ofrece.....	56
<b>3.2.</b> Composición analizada de proteína y aminoácidos de las dietas experimentales.....	57
<b>3.3.</b> Efecto del contenido de PC en la dieta sobre el desempeño productivo de lechones .....	58

## Introducción

Las dietas para lechones destetados a edad temprana usualmente contienen altos niveles de proteína. El destete de lechones a edad temprana frecuentemente se asocia con una disminución en crecimiento y con una alta incidencia de problemas intestinales como diarrea (Aherne et al., 1992), principalmente, debido a la inmadurez del tracto gastrointestinal (TGI). Además en esta etapa puede ocurrir una disminución en la eficiencia de la digestión de proteína. En los cerdos la fermentación ocurre principalmente en ileon distal y en el intestino grueso (Decuypere and Van der Heyde, 1972).

La fermentación bacteriana de fibra y proteína no digerida produce ácidos grasos volátiles (AGV) y sustancias potencialmente tóxicas tales como amoníaco y aminos las cuales tienen un efecto negativo en procesos de absorción y crecimiento (Gaskins, 2000). Altos niveles de proteína pueden estimular la proliferación de bacterias patógenas en el TGI (Ball y Aherne, 1987). La presencia abundante de proteínas y AA no absorbidos en ileon e intestino grueso pueden resultar en la proliferación de bacterias proteolíticas que producen gran cantidad de aminos biogénicas, las cuales pueden causar irritación de la mucosa, resultando en diarrea y talvez incrementan la entrada de toxinas en el intestino grueso (Nollet et al. 1999).

El amoníaco libre es la forma de nitrógeno más tóxica y fácil de absorber en las células y su contenido aumenta al incrementarse el consumo de proteína. El amoníaco destruye las células, altera la síntesis de ácidos nucleicos, e incrementa la masa de las células de la mucosa intestinal (Visek, 1978). La incidencia de diarrea en lechones destetados ha sido asociada con un aumento en la producción de aminos (Porter y Kenworthy, 1969) y amoníaco (Dong et al. 1996) en el GTI. El uso de antibióticos como

promotores de crecimiento ha sido efectivo para controlar la incidencia de diarrea. Después de la prohibición del uso de antibióticos en alimentación animal en la Unión Europea, en enero del 2006, encontrar alternativas para mitigar la diarrea post-destete se ha convertido en un área de interés actual en la producción porcina.

La formación de productos de la fermentación microbiana puede ser afectada cuantitativamente y cualitativamente por la concentración de proteína y/o AA en la dieta (Hobbs et al., 1996). Un incremento en el nivel de proteína resultará en un aumento en la fermentación de la misma por los microbios. Por lo anterior al disminuir el nivel de proteína en la dieta (adicionando AA sintéticos) se reduce la cantidad de sustratos disponibles para la fermentación microbiana y la formación de metabolitos microbianos en el TGI. El objetivo del presente estudio fue determinar el efecto de la disminución del nivel de proteína en dietas trigo-maíz-frijol soya procesado por calentamiento (adicionadas con AA sintéticos) sobre la digestibilidad ileal aparente de PC y AA, sobre la concentración de metabolitos microbianos (amoníaco, aminos y AGV) en la digesta colectada en ileon distal y ciego, y también sobre el desempeño productivo de lechones destetados.

## **Experimento 1**

**Efecto del nivel de proteína en la dieta sobre la digestibilidad ileal aparente de proteína y aminoácidos, y la formación de metabolitos microbianos en Ileon distal en lechones destetados**

**RESUMEN:** Se realizó un experimento con lechones destetados a los 14 d de edad, adaptados con una cánula-T en ileon distal, para determinar el efecto del nivel de proteína cruda (**PC**) en la digestibilidad ileal aparente (**DIA**) de PC y aminoácidos (**AA**), y la concentración de metabolitos microbianos en la digesta ileal. Al término de un periodo de 7 d de recuperación post operatorio, 10 lechones fueron asignados a dos dietas experimentales de acuerdo a un diseño de recambio simple. Se formularon dos dietas para contener 24% ó 20% de PC, dietas alta en PC y baja en PC, respectivamente. Se utilizó trigo, maíz y soya integral procesada por calentamiento como ingredientes principales. Las dietas fueron adicionadas con AA (Lys, Met, Thr, Ile y Val) para satisfacer los requerimientos de digestibilidad verdadera de acuerdo a los estándares de NRC (1998). Las dietas fueron ofrecidas a un nivel de 2.5 veces el requerimiento de Energía Metabolizable para mantenimiento. Se ofreció alimento a los lechones tres veces al día y en cantidades iguales, a las 0800, 1600 y 2400. El Agua estuvo a libre acceso en chupones de baja presión. Se colectó digesta ileal por un total de 24 h, de 0800 a 2000 los d 6 y 7 de cada periodo experimental. Se utilizó oxido crómico como marcador de digestibilidad. El peso inicial y final promedio de los lechones fue de 6.8 y 9.9 kg de peso vivo, respectivamente. Los resultados del experimento muestran que la DIA de material seca ( $P = 0.564$ ), material orgánica ( $P = 0.513$ ) y Lys, Met y Thr ( $P > 0.05$ ) no fueron afectadas por el contenido de PC de la dieta. Sin embargo, la DIA de los demás AA esenciales y de todos los AA no esenciales fue menor ( $P < 0.05$ ) en la dieta baja en CP. El pH, la concentración de amoniaco, los ácidos grasos volátiles, exceptuando el ácido butírico, y las aminas en la digesta colectada en ileon distal no fueron afectados por el nivel de proteína en la dieta ( $P > 0.05$ ). Los resultados del presente experimento muestran que al reducir el contenido de PC en la dieta con la adición de AA limitantes sintéticos se va a disminuir la DIA de los AA

con la excepción de los AA que fueron adicionados. El impacto de la actividad microbiana en el metabolismo de la proteína en el intestino delgado de los cerdos es muy pequeña. El pH, la concentración de amoníaco, AGV, y aminos no fueron afectadas por el contenido de PC en la dieta.

Palabras clave: Aminoácidos, digestibilidad, lechones destetados, metabolitos microbianos, proteína

**ABSTRACT:** An experiment was conducted with weanling pigs, fitted with a simple T-cannula at the distal ileum, to determine the effect of dietary crude protein (**CP**) levels on the apparent ileal digestibilities (**AID**) of CP and amino acids (**AA**), and the concentrations of microbial metabolites in ileal digesta. Following a 7-d recuperation period after surgery, 10 piglets were assigned to two experimental diets according to a crossover design. Two diets were formulated to contain 24% or 20% CP by using wheat, corn and full-fat soybean as main ingredients. The diets were supplemented with AA (Lys, Met, Thr, Ile and Val) to meet their true digestible supplies according to NRC (1998) standards. The diets were fed at a rate of 2.5 times the ME requirement for maintenance. The pigs were given three meals of equal amounts daily, at 0800, 1600 and 2400. Water was freely available from a low-pressure drinking nipple. Ileal digesta were collected for a total of 24 h, from 0800 to 2000 on d 6 and from 0800 to 2000 on d 7 of each experimental period. Chromic oxide was used as the digestibility marker. Results of the experiment showed that the AID of DM ( $P = 0.564$ ), OM ( $P = 0.513$ ) and the AA Lys, Met and Thr were not affected by the dietary CP content ( $P > 0.05$ ). However, the AID of the rest of the essential AA, and all non-essential AA were lower ( $P < 0.05$ ) in the low CP diet. The pH, concentrations of ammonia, volatile fatty acids (VFA), except butyric acid, and amines in digesta collected from distal ileum were not affected by the dietary CP content. The results of this experiment show that a reduction in the dietary CP content, with the supplementation of the limiting AA, will decrease the AID of AA with the exception of the AA that were supplemented. The impact of microbial activity on protein metabolism in the small intestine of the pigs is very small. The pH and concentrations of ammonia, VFA, and amines were not affected by the dietary CP content.

Key Words: Amino acids, early-weaned pigs, digestibility, microbial metabolites, protein

## Materiales y Métodos

### *Animales, alojamiento, y procedimiento experimental*

Diez lechones (Large white × Duroc) castrados, con peso vivo (**PV**) inicial de  $5.1 \pm 0.5$  kg promedio, fueron obtenidos inmediatamente después de ser destetados a 14 d de edad del Centro de Investigación y Tecnología en Cerdos de la Universidad de Alberta. Una semana previa al destete, los lechones fueron proveídos con alimento pre-iniciador. Para un pronta aclimatación al corral, los lechones fueron mantenidos en parejas en los primeros 3 d. Después los lechones fueron alojados individualmente en jaulas metabólicas ( $0.7 \text{ m} \times 0.7 \text{ m}$  y 0.5 m de alto) en un cuarto con temperatura controlada de 25 a 28 °C. Cada jaula metabólica estaba equipada con piso de plástico térmico, una lámpara infrarroja que mantenía la temperatura de 32 °C, y un comedero. El agua se ofreció a libre acceso por medio de un chupón de baja presión. En los d 11 y 12 post destete, los lechones (PV promedio  $6.2 \pm 0.8$  kg) fueron equipados con una cánula-T en ileon distal, aproximadamente 5 cm de la válvula íleo-cecal. Se retiró el alimento a los lechones 12 h antes de la cirugía, pero el agua continuó siendo disponible durante ese tiempo. Una descripción detallada de la colocación de la cánula, y el cuidado pre- y post-operatorio de los lechones es descrita por Sauer (1976) y Li et al. (1993). Durante el periodo de 7 d de recuperación, los lechones se alimentaron con una dieta iniciador comercial (23% CP).

Al término del periodo de recuperación, los lechones se distribuyeron en las dos dietas experimentales en base al PV, de acuerdo con un diseño experimental de recambio simple. Cada periodo experimental consistió de 7 días. El PV de cada lechón fue medido al inicio y al término de cada periodo. La propuesta del experimento fue aprobada por el Comité de Cuidado Animal de la Facultad de Agricultura de la Universidad de Alberta y el

cuidado de los lechones en este estudio fue de acuerdo al lineamiento establecido por la guía de cuidado y uso de animales experimentales CCAC (1993).

### *Dietas experimentales y alimentación*

Se formularon dos dietas experimentales para contener 24% y 20% de PC, dieta alta y baja en PC, respectivamente. Se utilizó trigo, maíz y soya integral procesada por calentamiento como principales ingredientes (Cuadro 1.1). Las dietas fueron formuladas para aportar el mismo contenido de energía neta. Cuando fue necesario las dietas fueron adicionadas con AA sintéticos (Lys, Met, Thr, Ile y Val), proveídos por Degussa-Hüls AG (Hanau-Wolfgang, Alemania), para satisfacer el aporte digestible verdadero (estandarizado) de acuerdo a NRC (1998). El aporte de Met más Cys, Thr y Trp digestible ileal estandarizado (**DIE**) en relación a Lys DIE en las dietas fueron balanceados de acuerdo al perfil de AA ideal para cerdos de 10 a 20 kg sugerido por Rademacher et al. (2000). Los ingredientes se analizaron para conocer su contribución de AA previo a la formulación de la dieta. Antes de mezclar las dietas, el trigo, el maíz y la soya integral procesada por calentamiento fueron molidos a tamaño de partícula menor a 2-mm. Las dietas fueron adicionadas con fosfato dicálcico para contener 0.80% de Ca y 0.65% de P total. Se adicionó aceite de soya a las dietas para incrementar el contenido de energía metabolizable al nivel recomendado por NRC (1998). Se adicionó vitaminas y minerales para cubrir o exceder los estándares recomendados por NRC (1998) para cerdos entre 5 a 10 kg de PV. Se incluyó óxido crómico, 0.3% de las dietas, como marcador de digestibilidad. Las dietas fueron ofrecidas a un tasa de 2.5 veces el requerimiento de EM ( $106 \text{ kcal/PV}_{\text{kg}}^{0.75}$ ) basándose en el PV de cada lechón obtenido al principio de cada periodo experimental. Los lechones recibieron alimento tres veces al día, en cantidades iguales, a las 0800, 1600 y 2400.

### *Colecta de muestras*

La digesta ileal fue colectada sujetando bolsas de plástico (15 cm de largo, 4 cm de ancho) al barril de la cánula, por un total de 24 h, de 0800 a 2000 en el d 6 y de igual manera el d 7 de cada periodo experimental. Las bolsas eran removidas tan pronto como se llenaban de digesta e inmediatamente después se congelaban a  $-28^{\circ}\text{C}$ . A excepción de la digesta colectada para la determinación de pH y AGV, se adicionó a las bolsas 3 mL de ácido fórmico 10% (vol/vol) para prevenir fermentación bacteriana. Previo al análisis químico, las bolsas con digesta fueron agrupadas por lechón y periodo, y secadas por liofilización. Las muestras secas de digesta y de las dietas fueron molidas a través de un tamiz de 0.5-mm en un molino tipo Thomas-Wiley (Arthur H. Thomas Co., Philadelphia, PA) y homogenizadas antes de su análisis. Se tomaron muestras de los ingredientes mayores previo a la formulación de las dietas. Las muestras de las dietas fueron tomadas inmediatamente después de su elaboración.

### *Análisis químico*

Los análisis de contenido materia seca (**MS**) y cenizas de las dietas y digesta fueron realizados de acuerdo a AOAC (1990). La energía bruta fue determinada con un calorímetro automático AC-300 Leco (Leco Corporation, St. Joseph, MI). El contenido total de P en las dietas fue determinado por espectrofotometría mediante el procedimiento de molibdovanadato No. 965.17 (AOAC, 1990). El óxido crómico fue determinado por espectrofotometría de acuerdo a Fenton y Fenton (1979). El pH fue determinado directamente en una muestras de digesta homogenizada usando un potenciómetro Accumet® Basic AB15 (Fisher Scientific) con electrodo de vidrio Accumet® (cat. #13-620-271). Las determinaciones de AGV se llevaron a cabo usando el método de

cromatografía de gases descrito por Playne (1985). Se tomó 1 mL de digesta ileal y se mezcló con 300  $\mu$ L de ácido metafosfórico al 25% (relación 5:1) en un tubo de centrifuga, la mezcla se congeló por una noche y después se incubó a temperatura ambiente por 30 min. Esta mezcla se centrifugó por 10 min a 2,400 rpm (Internacional equipment Co., Needham Heights, MA) para remover el precipitado, el supernadante se centrifugó luego a 12,000 rpm, después se tomó una muestra limpia para analizar la concentración de los AGV acético, propiónico, butírico, isobutírico, valérico, isovalérico y caproico usando un cromatógrafo de gases Varian model 3400 (Varian, Walnut Creek, CA). La concentración de N amoniacal en la digesta fue determinada utilizando procedimiento de espectrofotometría adaptado del método descrito por Novozamsky et al. (1974). Se utilizó 1.5mL de una solución elaborada con 200 mL de sodio nitroprusiato y 10 mL de EDTA 4%, esta se adicionó a 50  $\mu$ L de fluido de digesta ileal en un tubo de ensaye. Después, se adicionaron a la mezcla 2.5mL de una solución de NaOCl 10%. Los tubos de ensaye conteniendo la muestra resultante se colocaron en una gradilla en completa oscuridad por 30 min seguido de la lectura de la absorbancia de la mezcla a 630nm. Las concentraciones de A amoniacal fueron determinadas al calcular las concentraciones de una ecuación de regresión de una curva estándar (rango: 2.5 a 20 mg/L).

El análisis de AA y PC fueron llevados a cabo por Degussa AG. El procedimiento de análisis de AA fue previamente descrito en detalle por Kaufmann et al. (2005). Una muestra con aproximadamente 62.5 mg de PC fue puesta en un matraz de 50 mL. Después, se adicionaron 5 mL de ácido perbórmico y la solución se mezcló con un agitador magnetico por 15 min bajo un baño con hielo. El matraz fue después cerrado por 16 h a 0 °C para obtener sulfona de metionina y ácido cisteico. La hidrólisis de proteína fue iniciada

al adicionar al matraz 25 mL fenol-ácido hidroclicórico y colocándolo en el horno a 110 °C por 24 h. Después de la hidrólisis el matraz se enfrió y se le adicionó 15 mL de la solución estandar de norleucina. Después de mezclarlo, el hidrolizado fue transferido a un vaso precipitado de 250-mL, el cual contenía 125 mL de solución tampón citrato y 19 mL de solución de hidroxido de sodio. Esta solución se aplicó después a la columna del analizador de aminoácidos. Se utilizó un analizador de aminoácidos Biochrom 20. Los cromatogramas de aminoácidos fueron simultaneamente detectados a 570 y 440 nm. El contenido de triptófano no fue determinado. La PC ( $N \times 6.25$ ) fue medida con el determinador de nitrógeno Leco FP-428 (Leco Corp., St. Joseph, MI).

#### *Cálculos y Análisis Estadísticos*

La digestibilidad ileal aparente (**DIA**) de MS, material orgánica (**MO**), CP y AA de las dietas experimentales fue obtenido usando el óxido de cromo como marcador de digestibilidad. Los coeficientes de DIA fueron calculados utilizando la siguiente ecuación:

$$D_A = 100\% - [(A_F \times I_D) / (A_D \times I_F)] \times 100\%$$

Donde  $D_A$  es el coeficiente de DIA de MO, MS, PC y AA en la dieta a analizar (%),  $A_F$  es la concentración de PC y AA en la digesta ileal (%),  $I_D$  es la concentración de óxido de cromo en la dieta a analizar (%),  $A_D$  es la concentración de PC y AA en la dieta a analizar (%) e  $I_F$  es la concentración de óxido de cromo en la digesta ileal (%).

Basándose en el siguiente modelo lineal, los datos fueron sujetos a análisis estadísticos usando el procedimiento Proc Mixed del paquete estadístico SAS (SAS, 1990).

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + S_j + P_k + A_l + \epsilon_{ijk}$$

Donde  $Y_{ijk}$  es el valor de digestibilidad, pH de la digesta, concentraciones de AGV y aminos, ;  $\mu$  es la media total de los valores de digestibilidad, pH de la digesta, concentraciones de AGV y aminos;  $T_i$  es efecto fijo de los tratamientos e  $i = 1, 2$ ;  $S_j$  es el efecto aleatorio de la secuencia y  $j = 1, 2$ ;  $P_k$  es el efecto aleatorio de los periodos experimentales y  $k = 1, 2$ ;  $A_l$  es el efecto aleatorio de los animales y  $l = 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10$ ;  $\epsilon_{ijk}$  es error experimental  $N(0, \sigma^2)$ . Las diferencias entre tratamientos fueron determinadas usando mínimos cuadrados en el procedimiento Proc Mixed y el nivel de significancia fue establecido a  $P < 0.05$ .

## **Resultados y discusión**

### *Análisis de las dietas y Salud Animal*

La composición química de las dietas experimentales se presenta en el Cuadro 1.2. El contenido de PC analizado en ambas dietas fue aproximadamente 1 % mayor que en los valores calculados basándose en los aportes de los ingredientes analizados. Los valores para los AA fueron similares a los valores calculados.

Todos los lechones se recuperaron bien de la cirugía, permanecieron saludables a lo largo del experimento y usualmente consumían su ración de alimento correspondiente dentro de los primeros 30 min después de ser ofrecida. El PV promedio de los lechones fue  $6.8 \pm 0.7$  kg al inicio del periodo 1. El PV promedio de los lechones al término de los periodos 1 y 2 fue  $8.3 \pm 0.8$  y  $9.9 \pm 1.0$  kg, respectivamente. No hubo incidencia de diarrea a través del experimento. Las exámenes postmortem realizadas al término del experimento no mostraron adhesiones intestinales o cualquier otra anomalía en el intestino.

### *Digestibilidad ileal aparente de proteína cruda y aminoácidos*

Los coeficientes de DIA de MS, MO, PC y AA son presentados en el Cuadro 1.3. La DIA de MS ( $P = 0.564$ ) y MO ( $P = 0.513$ ) no fueron afectadas por el contenido de PC. Al reducir la PC de la dieta en 4 unidades porcentuales y adicionando AA sintéticos se disminuye ( $P = 0.035$ ) la DIA de PC de la dieta baja en PC (Cuadro 1.3). La reducción en el contenido de PC no afectó la DIA de Lys, Met, y Thr. La DIA de los otros AA esenciales y no-esenciales fue menor ( $P < 0.05$ ) en la dieta baja en PC. En contraste, Otto et al. (2003) reportan que la DIA y DIE para todos los AA no-esenciales y para la mayoría de los AA esenciales aumentó linealmente al ir reduciendo el nivel de PC en la dieta de 15, 12, 9 a 6% en cerdos en crecimiento alimentados con dietas maíz-pasta de soya. Esto lo atribuyen a la gran cantidad de AA sintéticos adicionados a las dietas al ir disminuyendo el nivel de PC.

Ambas dietas usadas en este estudio fueron formuladas para satisfacer o exceder los requerimientos de AA totales y DIE para lechones de 5 a 10 kg del NRC (1998). No hubo necesidad de suplementar Trp. Basándose en los valores analizados, la proporción de AA esenciales en relación a Lys fue similar en ambas dietas fue similar. Sin embargo, el aporte de DIE de Trp en la dieta alta en PC fue mayor que en la dieta baja en PC (0.32 vs. 0.25%). La composición de AA analizada en las dietas indica que el contenido de todos los AA esenciales y no-esenciales en la dieta alta en PC fue mayor que en la dieta baja en PC (Cuadro 1.2). Esta puede ser la principal razón para la disminución de la DIA de AA y PC en la dieta baja en PC. Fan et al. (1994) también observaron una relación cuadrática entre el contenido de AA en la dieta en la DIA de PC y de todos los AA cuando el nivel de PC fue reducido 4 unidades porcentuales.

### *pH y concentraciones de Amoniaco, AGV y aminos en digesta ileal*

El pH y la concentración de AGV y aminos en la digesta ileal fueron utilizados como indicadores de la salud del intestino y actividad microbiana. Las dietas altas en PC tienen una alta capacidad buffer (Partanen and Mroz, 1999). Cuando la capacidad buffer de las dietas es alta, el pH en el tracto gastrointestinal (**TGI**) permanece alto lo cual favorece la proliferación de bacterias en la parte baja del intestino delgado. Así el cerdo necesita producir más ácido clorhídrico (**HCL**) en el estómago para digerir eficientemente la proteína. Cranwell (1985) sugiere que una de las causas de los desórdenes en el intestino post-destete, como diarrea, es la producción y secreción insuficiente de HCL por el estómago. La incidencia de diarrea en lechones destetados ha sido asociada con un aumento en la producción de aminos (Porter y Kenworthy, 1969) y amoniaco (Dong et al. 1996) en el TGI. La presencia abundante de proteínas y AA no absorbidos en ileon e intestino grueso pueden resultar en la proliferación de bacterias proteolíticas que producen gran cantidad de aminos biogénicos, estas aminos pueden causar irritación de la mucosa, resultando en diarrea y tal vez incrementa la entrada de toxinas en el intestino grueso (Mollet et al. 1999).

La cadaverina, una de las más pequeñas de las poliaminas, no es sintetizada por células eucariótidas, proviene del producto final de la descarboxilación de Lys por lisina descarboxilasa en las bacterias. Esta reacción es estimulada por el medio ácido; la cadaverina sintetizada es posteriormente excretada de la célula para neutralizar el pH externo, de esta manera, protege a la célula de las condiciones ácidas (Samartzidou y Delcour, 1999). La síntesis de putrescina fue estudiada primero en procariótidos pero en general se han encontrado los mismos pasos biosintéticos en las células eucariótidas. Los primeros pasos para la biosíntesis de poliamidas son la descarboxilación de ornitina para

formar putrescina y s-adenosilmetionina para formar adenosilmetionina descarboxilada (Tabor y Tabor, 1984).

El amoníaco libre es la forma de nitrógeno más tóxica y fácil de absorber en las células, el amoníaco destruye las células, altera la síntesis de ácidos nucleicos, incrementa la masa de las células de la mucosa intestinal y su contenido aumenta al incrementarse el consumo de proteína (Visek, 1978). El pH de la digesta ileal de los lechones alimentados con la dieta alta en PC no fue diferente ( $P = 0.509$ ) de aquel en lechones alimentados con la dieta baja en PC (Cuadro 1.4). El pH de la digesta colectada del ileon distal de los lechones alimentados con la dieta alta y baja en PC estuvo entre los rangos normales para lechones destetados de 4 a 5 semanas de edad reportado por Franklin et al. (2002). Nyachoti et al. (2006) no encontraron diferencia en el pH de la digesta ileal al reducir el nivel de PC en la dieta de 23, 21, 19 a 17 % y manteniendo el nivel de AA esenciales, sin embargo encontraron una respuesta cuadrática donde el valor de pH en la dieta de 21% de PC fue el menor en comparación con la dieta testigo de 23% de PC.

La concentración de N amoniacal en la digesta ileal no fue afectado ( $P = 0.644$ ) por el contenido de PC en la dieta (Cuadro 1.4). Las concentraciones de N amoniacal en la digesta ileal fueron 16.4 y 15.4 mg/L para las dietas alta y baja en PC, respectivamente. Por el contrario, Nyachoti et al. (2006) encontraron que al reducir el nivel de PC en las dietas para lechones se disminuye el N amoniacal. Las concentraciones de AGV y aminas en la digesta ileal son presentadas en los Cuadros 1.5 y 1.6, respectivamente. No hubo efecto ( $P > 0.05$ ) del contenido de PC en la dieta sobre la concentración individual y total de AGV en la digesta colectada del ileon distal, excepto para la concentración de ácido butírico, la cual fue menor en la dieta baja en PC ( $P = 0.021$ ). La concentración total de AGV en la digesta ileal fue 17.8 y 15.8 mmol/L para las dietas alta y baja en PC, respectivamente. Los

valores para las concentraciones de los ácidos acético, propiónico y butírico, y del total de AGV se encuentran dentro del rango de valores reportados por Canibe et al. (2001) y Bach Knudsen et al. (1991). En contraste, Nyachoti et al. (2006) reporta concentraciones menores de AGV en la digesta ileal de lechones alimentados con dieta baja en PC. El disminuir la PC de la dieta no tuvo efecto ( $P > 0.05$ ) sobre la concentración de putrescina y cadaverina en la digesta colectada del ileon distal (Cuadro 1.6).

Estos estudios muestran la presencia de actividad microbiana en la digesta del ileon distal medible. Sin embargo, el pH y la concentración de amoníaco, AGV, y aminos no fueron afectadas por el contenido de PC en la dieta. Estos valores son marcadamente menores en comparación a los obtenidos de la digesta del ciego (Experimento 2). Una explicación especulativa para estas observaciones es que debido a la tasa rápida de pasaje de la digesta a través del intestino delgado, (2 a 6 h de tiempo de retención) la fermentación bacteriana puede ser limitada. Estos resultados muestran que el impacto de la actividad microbiana en el metabolismo de la proteína en el intestino delgado de los cerdos es muy pequeña.

## **Implicaciones**

La reducción del contenido de PC en la dieta, suplementando AA limitantes, va a disminuir la DIA de AA a excepción de aquellos AA que se adicionaron en forma libre. Los resultados indican que el contenido de PC en la dieta no afecta el pH y la concentración total de AGV, la concentración individual (a excepción del ácido butírico) y aminos en la digesta colectada del ileon distal en lechones. Una explicación especulativa para estas observaciones es que debido a la tasa rápida de pasaje de la digesta a través del intestino delgado (2 a 6 h de tiempo de retención) la fermentación bacteriana puede ser limitada. Estos resultados muestran que el impacto de la actividad microbiana en el metabolismo de la proteína en el intestino delgado de los cerdos es muy pequeña.

## Literatura Citada

- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 1990. Official Methods of Analysis (14<sup>th</sup> Ed.). Arlington, VA.
- Bach Knudsen, K. E., B. B. Jensen, J. O. Andersen, and I. Hansen. 1991. Gastrointestinal implications in pigs of wheat and oat fractions 2. Microbial activity in the gastrointestinal tract. *Br. J. Nutr.* 65: 233–248.
- Canibe, N., S. H. Steien, M. Øverland, and B. B. Jensen. 2001. Effect of K-diformate in starter diets on acidity, microbiota, and the amount of organic acids in the digestive tract of piglets, and on gastric alterations. *J. Anim. Sci.* 79:2123–2133.
- CCAC. 1993. Guide to the care and use of experimental animals. (Edited by: Ernest D. Olfert, DVM; Brenda M. Cross, DVM; and A. Ann McWilliam). Vol. 1.
- Cranwell, P. D. 1995. Development of the neonatal gut and enzyme systems. Pages 99–154 in *The Neonatal Pig: Development and Survival*. M. A. Varley, ed. Wallingford, U.K.
- Dong G., Zhou A., Yang F., Chen K., Wang K., and D. Dao. 1996. Effect of dietary protein levels on the bacterial breakdown of protein in the large intestine, and diarrhoea in early weaned piglets. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica* 27, 293–302.
- Fan, M. Z., W. C. Sauer, R. T. Hardin, and K. A. Lien. 1994. Determination of apparent ileal amino acid digestibility in pigs: effect of dietary amino acid level. *J. Anim. Sci.* 72: 2851–2859.

- Fenton, T. W., and M. Fenton. 1979. An improved procedure for the determination of chromic oxide in feed and feces. *Can. J. Anim. Sci.* 59:631–634.
- Franklin, M. A., A. G. Mathew, J. R. Vickers, and R. A. Clift. 2002. Characterization of microbial populations and volatile fatty acid concentrations in the jejunum, ileum, and cecum of pigs weaned at 17 vs 24 days of age. *J. Anim. Sci.* 80:2904–2910.
- Kaufmann, C., W.C. Sauer, M. Cervantes, Y. Zhang , J. He and J. K. Htoo. 2005. Amino acid and energy digestibility in different sources of rice bran for growing pigs. *Can. J. Anim. Sci.* 85:355–363.
- Li, S., W. C. Sauer and M. Z. Fan. 1993. The effect of dietary crude protein level on ileal and fecal amino acid digestibility in early-weaned pigs. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 70:117–128.
- NRC. 1998. Pages 111–123 in *Nutrient Requirements of Swine*. 10<sup>th</sup> ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.
- Nyachoti, C. M., F. O. Omogbenigun, M. Rademacher, and G. Blank. 2006. Performance responses and indicators of gastrointestinal health in earlyweaned pigs fed low-protein amino acid-supplemented diets. *J. Anim. Sci.* 84:125–134.
- Novozamsky, I., R. van Eck, J. Ch. van Schouwenburg, and I. Walinga. 1974. Total nitrogen determination in plant material by means of the indophenol-blue method. *Neth. J. Agric. Sci.* 22:3–5.

- Otto, E. R., M. Yokoyama, P. K. Ku, N. K. Ames, and N. L. Trottier. 2003. Nitrogen balance and ileal amino acid digestibility in growing pigs fed diets reduced in protein concentration. *J. Anim. Sci.* 81:1743–1753.
- Partanen, K. H., and Z. Mroz. 1999. Organic acids for performance enhancement in pig diets. *Nutrition Research Reviews.* 12: 117–145.
- Playne, M. J. 1985. Determination of ethanol, volatile fatty acids, lactic acid and succinic acids in fermentation liquids by gas chromatography. *J. Sci. Food Agric.* 36:638.
- Porter, P., and R. Kentworthy. 1969. A study of intestinal and urinary amines in pigs in relation to weaning. *Res Vet Sci.* 10:440.
- Rademacher, M., W. C. Sauer, and A. J. M. Jansman. 2000. Standardized ileal digestibility of amino acids in pigs. The New System. Degusa-Hülls, Germany.
- Samartzidou, H., and A. H. Delcour. 1999. Excretion of endogenous cadaverine leads to decrease in porin-mediated outer membrane permeability. *Journal of Bacteriology.* 181: 791-798.
- Sauer, W. C. 1976. Factors affecting amino acid availabilities for cereal grains and their components for growing monogastric animals. Ph.D. Diss., Univ. of Manitoba, Winnipeg, Manitoba, Canada.
- SAS. 1990. SAS/STAT User's Guide (Release 6.03). SAS Inst. Inc., Cary, NC.
- Tabor, C. W., and H. Tabor. 1984. Polyamines. *Ann. Rev. Biochem.* 53:749-790.
- Vissek, W. J. 1978. Diet and cell growth modulation by ammonia. *Am. J. Clin. Nutr.* 31(suppl. 1):S216-S220.



**Cuadro 1.1.** Composición de las dietas experimentales, tal como se ofrece

Componentes de las dietas	Dieta	
	24% PC	20% PC
Ingredientes, %		
Trigo	30.00	30.96
Soya procesada por calentamiento	23.94	3.54
Maíz	19.04	36.89
Suero de leche en polvo	10.00	10.00
Harina de pescado, 64% PC	6.00	6.00
Plasma sanguíneo	5.00	5.00
Leche descremada en polvo	2.50	2.50
Aceite de soya	1.84	2.09
Piedra caliza	0.77	0.65
Fosfato di cálcico	0.08	0.43
Biolisina	0.18	0.76
DL-Metionina	0.08	0.16
L-Treonina	–	0.15
L-Isoleucina	0.02	0.20
L-Valina	–	0.12
Cloruro de colina <sup>a</sup>	0.05	0.05
Premezcla <sup>b</sup>	0.20	0.20
Oxido de cromo	0.30	0.30
<i>Contenido de nutrientes calculado</i>		
Energía metabolizable, Mcal/kg	3,553	3,496
Energía neta, Mcal/kg	2,557	2,557
Proteína cruda, %	23.0	19.0
Isoleucina, %	0.91	0.86
Leucina, %	1.85	1.55
Lisina, %	1.48	1.43
Metionina, %	0.47	0.49
Fenilalanina, %	0.91	0.81
Treonina, %	0.97	0.92
Triptofano, %	0.37	0.29
Valina, %	1.13	1.02
Lisina DIE, % <sup>c</sup>	1.30	1.30
Metionina + Cistina DIE, % <sup>c</sup>	0.79	0.78
Treonina DIE, % <sup>c</sup>	0.83	0.82
Triptofano DIE, % <sup>c</sup>	0.32	0.25
Fósforo, %	0.65	0.65
Calcio, %	0.80	0.80

<sup>a</sup>Cloruro de Colina provee 600 g cloruro de colina por Kilogramo.

<sup>b</sup>La premexcla provee por Kilogramo de dieta: vitamina A, 10,000 IU; vitamina D<sub>3</sub>, 1,000 IU; vitamina E, 80 IU; vitamina K<sub>3</sub>, 2.0 mg; vitamina B<sub>12</sub>, 0.03 mg; riboflavina, 12 mg; niacina, 40 mg; D-acido pantoteico, 25 mg; biotina, 0.25 mg; acido folico, 1.6 mg; tiamina, 3.0 mg; y piridoxine, 2.25 mg; Fe (sulfato ferroso), 150 mg; Zn (carbonato de zinc), 150 mg; Mn (sulfato de manganeso), 40 mg; Cu (sulfato de cobre), 25 mg; I (Ioduro de potasio), 0.21 mg; Co (sulfato de cobalto), 0.5 mg; Se (selenito de sodio), 0.3 mg; and Etoxicuina, 5.0 mg.

<sup>c</sup>DIE = Digestible ileal estandarizada.

**Cuadro 1.2.** Composición analizada de las dietas experimentales

Componentes de las dietas	Dieta 24% PC	Dieta 20% PC
Materia seca, %	90.87	90.77
Energía Bruta, Kcal/kg	4.406	4.260
Proteína cruda, %	24.11	19.76
Fósforo total, %	0.66	0.64
<i>Aminoácidos esenciales, %</i>		
Arginina	1.42	1.01
Histidina	0.63	0.49
Isoleucina	0.96	0.89
Leucina	1.92	1.59
Lisina	1.53	1.42
Metionina	0.51	0.51
Fenilalanina	1.14	0.87
Treonina	1.06	0.97
Valina	1.20	1.09
<i>Aminoácidos no-esenciales, %</i>		
Alanina	1.17	0.98
Ácido aspártico	2.21	1.54
Cistina	0.46	0.38
Ácido glutámico	4.46	3.58
Glicina	1.08	0.84
Serina	1.53	1.33
Prolina	1.24	0.93

<sup>a</sup>Los Valores están ajustados a 88% de contenido de MS.

**Cuadro 1.3.** Efecto del nivel de PC en la dieta en DIA (%) de PC y AA de las dietas experimentales

Variables	Dietas		P-valor	EEM <sup>a</sup>
	24% PC	20% PC		
Materia seca	80.4	81.1	0.564	1.92
Materia orgánica	81.6	82.4	0.513	1.90
Proteína cruda	83.4 <sup>b</sup>	78.6 <sup>c</sup>	0.035	1.39
<i>Aminoácidos esenciales, %</i>				
Arginina	90.4 <sup>b</sup>	82.9 <sup>c</sup>	0.001	1.48
Histidina	88.3 <sup>b</sup>	83.2 <sup>c</sup>	0.006	1.77
Isoleucina	87.6 <sup>b</sup>	83.7 <sup>c</sup>	0.026	1.50
Leucina	88.6 <sup>b</sup>	83.9 <sup>c</sup>	0.008	1.38
Lisina	88.5	85.4	0.054	1.21
Metionina	90.3	89.0	0.300	0.92
Fenilalanina	86.2 <sup>b</sup>	79.5 <sup>c</sup>	0.005	1.72
Treonina	82.6	79.4	0.105	1.41
Valina	86.5 <sup>b</sup>	82.8 <sup>c</sup>	0.031	1.59
<i>Aminoácidos no esenciales, %</i>				
Alanina	84.4 <sup>b</sup>	80.1 <sup>c</sup>	0.029	1.64
Ácido aspártico	85.3 <sup>b</sup>	74.3 <sup>c</sup>	0.0005	2.15
Cistina	84.6 <sup>b</sup>	77.9 <sup>c</sup>	0.005	1.57
Ácido glutámico	91.1 <sup>b</sup>	86.0 <sup>c</sup>	0.002	1.09
Glicina	82.3 <sup>b</sup>	74.5 <sup>c</sup>	0.001	2.73
Serina	85.8 <sup>b</sup>	77.9 <sup>c</sup>	0.002	1.81
Prolina	86.7 <sup>b</sup>	83.4 <sup>c</sup>	0.047	1.23

<sup>a</sup>Error estándar de la media (n = 10).

<sup>b, c</sup>Medias en la misma línea con diferente literales difieren estadísticamente ( $P < 0.05$ ).

**Cuadro 1.4.** Efecto del nivel de PC en la dieta sobre el pH y concentración de N amoniacal en la digesta ileal de lechones

Variables	Dietas		<i>P</i> -valor	EEM <sup>a</sup>
	24% PC	20% PC		
pH	7.30	7.56	0.509	0.31
N amoniacal (mg/L)	16.44	15.44	0.644	2.95

<sup>a</sup>Error estándar de la media (n = 10).

**Cuadro 1.5.** Efecto del nivel de proteína en la dieta sobre las concentraciones de AGV en la digesta ileal en lechones

Variable (mmol/L)	Dietas		<i>P</i> -valor	EEM <sup>a</sup>
	24% PC	20% PC		
Acético	14.17	12.36	0.334	2.39
Propiónico	1.93	2.17	0.502	0.29
Butírico	1.34 <sup>b</sup>	0.90 <sup>c</sup>	0.021	0.35
Isobutírico	0.22	0.26	0.434	0.04
Valérico	0.06	0.06	0.538	0.02
Isovalérico	0.05	0.04	0.464	0.02
Caproico	0.02	0.02	0.846	0.00
AGV totales	17.81	15.81	0.386	2.70

<sup>a</sup>Error estándar de la media (n = 10).

<sup>b, c</sup>Medias en la misma línea con diferente literal difieren estadísticamente ( $P < 0.05$ ).

**Cuadro 1.6.** Efecto del nivel de PC sobre la concentración de ciertas aminas en la digesta ileal de lechones

Variables (mmol/L)	Dietas		<i>P</i> -valor	EEM <sup>a</sup>
	24% PC	20% PC		
Putrescina	0.13	0.12	0.697	0.03
Cadaverina	0.06	0.06	0.938	0.02

<sup>a</sup>Error estándar de la media (n = 10).

## **Experimento 2**

**Efecto del nivel de proteína sobre la interacción entre funciones digestivas y formación de metabolitos microbianos en el ciego de lechones destetados**

**RESUMEN:** Se condujo un experimento con lechones destetados, equipados con una cánula-T en el ciego, para determinar el efecto del nivel de proteína cruda (**PC**) en la dieta sobre la concentración de metabolitos microbianos en la digesta cecal. Al término de 7-d de recuperación post-operatorio, 8 lechones fueron asignados a dos dietas experimentales de acuerdo a un diseño de recambio simple. Se formularon dos dietas para contener 24 o 20% PC, dieta alta en PC y baja en PC, respectivamente. Se utilizó trigo, maíz y soya integral procesada por calentamiento como principales ingredientes. Las dietas fueron adicionadas con los AA (Lys, Met, Thr, Ile, Trp y Val) para cubrir los aportes digestibles verdaderos de acuerdo a los estándares de NRC (1998). Las dietas fueron ofrecidas a una tasa de 2.5 veces el requerimiento de EM para mantenimiento. Se proporcionó alimento a los lechones tres veces al día en cantidades iguales, a las 0800, 1600 y 2400. El agua estuvo a libre acceso mediante un chupón de baja presión. La digesta fue colectada por un total de 24 h de 0800 a 2000 en 6 d y de igual manera en el 7 d de cada periodo experimental. El pH en la digesta no fue afectado por el contenido de PC en la dieta. La reducción del contenido de PC en la dieta de 24 a 20% redujo ( $P < 0.04$ ) la concentración de N amoniacal, los ácidos acético, isobutírico, y el total de ácidos grasos volátiles, y putrescina en la digesta colectada del ciego.

Palabras clave: Ciego, digestibilidad, lechones, metabolitos microbianos, proteína

**ABSTRACT:** An experiment was conducted with weanling piglets, fitted with a simple T-cannula in the cecum, to determine the effect of dietary protein level on the concentrations of microbial metabolites in cecal digesta. Following a 7-d recuperation period after surgery, 8 piglets were assigned to two experimental diets according to a crossover design. Two diets were formulated to contain 24 or 20% CP by using wheat, corn and full-fat soybean as main ingredients. The diets were supplemented with AA (Lys, Met, Thr, Ile, Trp and Val) to meet their true digestible supplies according to NRC (1998) standards. The diets were fed at a rate of 2.5 times the ME requirement for maintenance. The piglets were given three meals of equal amounts daily, at 0800, 1600 and 2400. Water was freely available from a low-pressure drinking nipple. Digesta were collected for a total of 24 h, from 0800 to 2000 on d 6 and from 0800 to 2000 on d 7 of each experimental period. The pH in digesta was not affected by the dietary CP content. The reduction of the dietary CP content from 24 to 20% reduced ( $P < 0.04$ ) the concentrations of ammonia N, acetic acid, isobutyric, and total volatile fatty acids, and putrescine in digesta collected from the cecum.

Key Words: Cecum, Digestibility, Early-weaned pigs, Microbial metabolites, Protein

## **Materiales y métodos**

### *Animales, alojamiento y procedimiento del experimento*

Ocho lechones (más dos de reserva) híbridos (Large white × Duroc) castrados, de un peso inicial de PV promedio de  $4.9 \pm 0.3$  kg, fueron obtenidos inmediatamente después del destete a los 14 d de edad del Centro en Investigación y Tecnología de la Universidad de Alberta. Mientras se encontraban con la cerda, los lechones fueron proveídos con una dieta preiniciador. Para una fácil aclimatación a la jaula, los lechones fueron mantenidos en parejas por los primeros 3 d. Después los lechones fueron alojados individualmente en jaulas ( $0.7 \text{ m} \times 0.7 \text{ m} \times 0.5$  de altura) en una sala con temperatura controlada de 25 a 28 °C. Cada jaula metabólica estaba equipada con piso de plástico térmico, una lámpara infrarroja que mantenía la temperatura del corral en 32 °C, y un comedero. El agua estuvo a libre acceso por medio de chupones de baja presión. En d 6 y 7 postdestete, los lechones tuvieron un PV promedio de BW  $5.2 \pm 0.3$  kg, se les colocó una cánula T simple en el Ciego como describe Topping et al. (1997). Una descripción detallada de la preparación de la cánula, y de cuidado pre- y post-operatorio fue previamente descrito por Li et al. (1993). Se les retiró el alimento a los lechones 12 h previas a la cirugía, pero el agua fue disponible siempre. Previo a la cirugía y durante un periodo de 7-d de recuperación, los lechones fueron alimentados con un alimento iniciador comercial (23% PC).

Siguiendo con un periodo de recuperación de 7-d de recuperación después de la cirugía, 8 de los lechones fueron distribuidos en base a su PV en los dos periodos experimentales de acuerdo al diseño experimental de recambio simple. Cada periodo experimental fue comprendido de 7 días. El PV de cada lechón fue registrado al inicio y a la conclusión de cada periodo. La propuesta del experimento fue aprobada por el comité de

cuidado animal de la Facultad de Agricultura de la Universidad de Alberta de acuerdo a la guía establecida por CCAC (1993).

### *Dietas experimentales y alimentación*

Dos dietas experimentales fueron formuladas para contener 24 y 20% de CP dieta alta en PC y baja en PC, respectivamente. Se utilizó trigo, maíz y frijol soya procesado por calentamiento como principales ingredientes (Cuadro 2.1). Las dietas fueron formuladas para aportar el mismo contenido de EN. Las dietas fueron adicionadas, cuando fue necesario con AA (Lys, Met, Thr, Ile, Trp y Val), proveídos por Degussa-Hüls AG (Hanau-Wolfgang, Alemania), para satisfacer sus aportes digestibles verdaderos (estandarizados) de acuerdo a los estándares del NRC (1998). El aporte de Met más Cys, Thr y Trp digestible ileal estandarizado (**DIE**) en relación a Lys DIE en las dietas fueron balanceados de acuerdo al perfil de AA ideal para cerdos de 10 a 20 kg sugerido por Rademacher et al. (2000). Los ingredientes que contribuyen con el contenido de AA de la dieta fueron analizados para determinar su contenido de AA previo a la formulación de la dieta. Previo al mezclado de las dietas, el trigo, el maíz y el frijol soya procesado por calentamiento fueron molidos a través de un tamiz de 2-mm de diámetro. Las dietas fueron adicionadas con fosfato dicálcico para contener 0.80% de Ca y 0.65% de P total. Se incluyó aceite de soya a las dietas para incrementar el contenido de EM al nivel recomendado por NRC (1998). Las vitaminas y minerales fueron suplementados para satisfacer o exceder los estándares del NRC (1998) para cerdos con un PV entre los 5 a 10 kg. El marcador de digestibilidad óxido de cromo, fue incluido a la dieta a un nivel de 0.3% de la dieta como precaución. Las dietas fueron ofrecidas a los lechones a un nivel de 2.5 veces el requerimiento de mantenimiento para EM ( $106 \text{ kcal/PV}_{\text{kg}}^{0.75}$ ) basandose en el PV de cada

lechón el cual fue determinado al inicio de cada periodo experimental. Los lechones recibieron alimento tres veces al día en cantidades iguales, a las 0800, 1600 y 2400. Las dietas fueron ofrecidas en forma molida.

#### *Colecta de muestras*

La digesta del ciego fue colectada por un total de 24 h, de las 0800 a 2000 en el d 6 y de las 0800 a 2000 en el d 7 de cada periodo experimental. Una bolsa de plástico (longitud: 7 cm) fue atada al barril de la cánula. Las bolsas fueron removidas tan pronto como se llenaban con digesta e inmediatamente después se congelaban a  $-28^{\circ}\text{C}$ . A excepción de la digesta colectada para la determinación de pH y AGV, se adicionó 3 mL de ácido fórmico 10% (vol/vol) a las bolsas para prevenir futura fermentación microbiana. Las muestras de los principales ingredientes alimenticios fueron tomadas previo a la formulación de las dietas. Muestras de las dietas fueron tomadas inmediatamente después de su preparación. Previo al análisis químico, las bolsas de digesta correspondiente a cada lechón y periodo fueron mezcladas e inmediatamente después congeladas a  $-28^{\circ}\text{C}$ .

#### *Análisis químico*

Los análisis de contenido material seca (**MS**) y cenizas de las dietas y digesta fueron realizados de acuerdo a AOAC (1990). La energía bruta fue determinada con un calorímetro automático AC-300 Leco (Leco Corporation, St. Joseph, MI). El contenido total de P en las dietas fue determinado por espectrofotometría mediante el procedimiento de molibdo vanadato No. 965.17 (AOAC, 1990). El óxido crómico fue determinado por espectrofotometría de acuerdo a Fenton y Fenton (1979). El pH fue determinado directamente en una muestras de digesta homogenizada usando un potenciómetro Accumet® Basic AB15 (Fisher Scientific) con electrodo de vidrio Accumet® (cat. #13-

620-271). Las determinaciones de AGV se llevaron a cabo usando el método de cromatografía de gases descrito por Playne (1985). Se tomó 1 mL de digesta ileal y se mezcló con 300  $\mu$ L de ácido metafosfórico al 25% (relación 5:1) en un tubo de centrifuga, la mezcla se congeló por una noche y después se incubó a temperatura ambiente por 30 min. Esta mezcla se centrifugó por 10 min a 2,400 rpm (Internacional equipment Co., Needham Heights, MA) para remover el precipitado, el supernadante se centrifugó ahora a 12,000 rpm, después se tomo una muestra limpia fue analizada para determinar la concentración de los AGV acético, propiónico, butírico, isobutírico, valérico, isovalérico y caproico usando un cromatógrafo de gases Varian model 3400 (Varian, Walnut Creek, CA). La concentración de N amoniacal en la digesta fue determinado utilizando procedimiento de espectrofotometría adaptado del método descrito por Novozamsky et al. (1974). Se utilizó 1.5mL de una solución elaborada con 200 mL de sodio-nitroprusiato y 10 mL de EDTA 4 %, esta se adicionó a 50  $\mu$ L de fluido de digesta ileal en un tubo de ensaye. Después 2.5mL de una solución de 10% de NaOCl fue adicionada a la mezcla. Los tubos de ensaye conteniendo la muestra resultante fueron puestos en una gradilla y colocados en completa oscuridad por 30 min seguido de la toma de lectura de la absorbancia de la mezcla a 630nm. Las concentraciones de A amoniacal fueron determinadas al calcular las concentraciones de una ecuación de regresión de una curva estándar (rango: 2.5 a 20 mg/L).

El análisis de AA y PC fueron llevados a cabo por Degussa AG. El procedimiento de análisis de AA fue previamente descrito en detalle por Kaufmann et al. (2005). Una muestra con aproximadamente 10 mg de nitrógeno fue puesta en un matraz de 50 mL. Después, se adicionó 5 mL de ácido perfórmico y la solución se mezcló con un agitador magnetico por 15 min bajo un baño con hielo. El matraz fue después cerrado por 16 h a 0 °C para obtener sulfona de metionina y ácido cisteico. La hidrolisis fue iniciada al adicionar

al matraz 25 mL fenol-ácido hidroclicórico y colocandolo en el horno a 110 °C por 24 h. Después de la hidrólisis el matraz se enfrió y se le adicionó 15 mL de la solución estandar de norleucina. Después de mezclarlo, el hidrolizado fue transferido a un vaso precipitado de 250-mL, el cual contenía 125 mL de solución tampón citrato y 19 mL de solución de hidroxido de sodio. Esta solución se aplicó después a la columna del analizador de aminoácidos. El analizador de aminoácidos fue un Biochrom 20. Los cromatogramas de aminoácidos fueron simultaneamente detectados a 570 y 440 nm. El contenido de triptófano no fue determinado. La PC (N x 6.25) fue medida con el determinador de nitrógeno Leco FP-428 (Leco Corp., St. Joseph, MI).

#### *Análisis Estadísticos*

Basándose en el siguiente modelo lineal, los datos fueron sujetos a análisis estadísticos usando el procedimiento Proc Mixed del paquete estadístico SAS (SAS, 1990).

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + S_j + P_k + A_l + \varepsilon_{ijk}$$

Donde  $Y_{ijk}$  es el valor de pH de la digesta, concentraciones de AGV y aminos, ;  $\mu$  es la media total de los valores de pH de la digesta, concetraciones de AGV y aminos;  $T_i$  es efecto fijo de los tratamientos e  $i = 1, 2$ ;  $S_j$  es el efecto aleatorio de la secuencia y  $j = 1, 2$ ;  $P_k$  es el efeto aleatorio de los periodos experimentales y  $k = 1, 2$ ;  $A_l$  es el efecto aleatorio de los animales y  $l = 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10$ ;  $\varepsilon_{ijk}$  es error experimental  $N(0, \sigma^2)$ . Las diferencias entre tratamientos fueron determinadas usando mínimos cuadrados en el procedimiento Proc Mixed y el nivel de significancia fue establecido a  $P < 0.05$ .

## Resultados y discusión

### *Análisis de las Dietas y Salud Animal*

La composición de PC y AA de las dietas experimentales se presentan en el Cuadro 2.2. El contenido de PC analizado de la dieta fue mayor (0.8%) que el valor calculado basándose en los valores de los ingredientes analizados. Los valores analizados para AA en ambas dietas fueron usualmente similares a los valores calculados a excepción de Tre en la dieta baja en PC el cual fue 0.1% menor.

Todos los lechones se recuperaron bien de la cirugía y permanecieron saludables a través del experimento. No hubo incidencia de diarrea a lo largo del experimento. El PV promedio de los lechones fue  $6.5 \pm 0.4$  kg al inicio del periodo 1. El PV promedio de los lechones a la conclusión del periodo 1 y 2 fue  $7.7 \pm 0.5$  y  $9.9 \pm 0.6$  kg, respectivamente.

### *pH y concentraciones de N amoniacal, AGV y aminos en la digesta del ciego.*

El pH y las concentraciones de metabolitos microbianos de la digesta cecal fueron usados como indicadores del estado de salud del intestino y de la actividad microbiana. Las dietas altas en proteína tienen una alta capacidad buffer (Partanen and Mroz, 1999). Cuando la capacidad buffer de la dieta es alta, el pH en el TGI permanece alto, lo cual favorece la proliferación de bacterias en la parte baja del mismo. El estómago necesita secretar más ácido clorhídrico (**HCL**) para eficientar la digestión de las proteínas. Cranwell (1985) sugiere que una de las causas de los desordenes intestinales, como la diarrea, es la producción insuficiente y secreción de HCL del estómago. La incidencia de diarrea en lechones destetados ha sido asociada con un aumento en la producción de aminos (Porter y Kenworthy, 1969) y amoníaco (Dong et al. 1996) en el TGI. La presencia abundante de

proteínas y AA no absorbidos en ileon e intestino grueso pueden resultar en la proliferación de bacterias proteolíticas que producen gran cantidad de aminas biogénicas, estas aminas pueden causar irritación de la mucosa, resultando en diarrea y tal vez incrementa la entrada de toxinas en el intestino grueso (Mollet et al. 1999).

La cadaverina una de las mas pequeñas de las poliaminas no es sintetizada por células eucariotas, proviene del producto final de la descarboxilación de Lys por lisina descarboxilasa en las bacterias, esta reacción es estimulada por el medio ácido, la cadaverina sintetizada es posteriormente excretada de la célula para neutralizar el pH externo y por lo tanto protegiendo a la célula de las condiciones ácidas (Samartzidou y Delcour, 1999). La síntesis de putrescina fue estudiada primero en procariotas pero en general se han encontrado los mismos pasos biosintéticos en las células eucariotas. Dos enzimas de interés particular ornitina descarboxilasa y adenosil metionina descarboxilasa. Los primeros pasos para la biosíntesis de poliamidas son la descarboxilación de ornitina para formar putrescina y adenosilmetionina para formar adenosilmetionina descarboxilada (Tabor y Tabor, 1984). El amoníaco libre es la forma de nitrógeno más tóxica y fácil de absorber en las células, el amoníaco destruye las células, altera la síntesis de ácidos nucleicos, incrementa la masa de las células de la mucosa intestinal y su contenido aumenta al incrementarse el consumo de proteína (Visek, 1978). Sin embargo, el pH de la digesta del ciego de lechones alimentados con dieta alta en PC no fue diferente ( $P = 0.473$ ) de aquellos alimentados con la dieta baja en PC (Cuadro 2.3). El pH de la digesta colectada del ciego de los cerdos alimentados la dieta 24 o 20% PC estuvieron en los rangos para los lechones destetados de 4 a 5 semanas de edad reportados por Franklin et al. (2002), estos autores observaron y reportaron que el incremento en la concentración de AGV en el ciego coincide con el incremento microbiano en este segmento de TGI. En el presente estudio, se

hipotetizó que al bajar el contenido de la PC de la dieta, habría una disminución en la fermentación y formación de metabolitos microbianos en el ciego al haber menos sustrato disponible. La concentración de N amoniacal en la digesta cecal disminuyó ( $P = 0.001$ ) un 32% (48.0 vs. 32.5 mg/L) con la reducción del contenido de PC dietario (Cuadro 2.3), indicando que la cantidad de sustrato fermentado por los microbios fue reducido en el ciego de lechones alimentados con la dieta baja en proteína. Una reducción en la concentración de N amoniacal tiene un efecto benéfico en la salud de TGI porque el amoníaco, uno de los metabolitos de la fermentación microbiana de la proteína indigerida, puede tener un efecto negativo en los procesos de absorción y crecimiento (Gaskins, 2000) y en la incidencia de diarrea (Dong et al., 1996). Se ha sugerido que la reducción en la producción de amoníaco es el primer mecanismo de respuesta de crecimiento inducido por la adición de antibióticos al alimento (Visek et al., 1978).

Las concentraciones de AGV y aminos en la digesta cecal, el efecto del contenido de PC en la dieta, son presentadas en los Cuadros 2.4 y 2.5, respectivamente. Las concentraciones de los ácidos acético, butírico, isobutírico, e isovalérico disminuyeron ( $P < 0.03$ ) con la reducción del contenido de PC en la dieta. La concentración total de AGV en la digesta cecal disminuyó ( $P = 0.036$ ) un 28% (85.3 vs. 61.8 mmol/L) (Cuadro 2.4). La concentración de los ácidos propiónico, butírico, valérico y caproico disminuyeron numéricamente. Los AGV son productos de la fermentación bacteriana de los residuos de carbohidratos y proteínas en el intestino grueso (Le et al., 2005). En el ciego donde el pH es neutro, la desaminación es la ruta metabólica principal de AA (Mackie et al., 1998). Las concentraciones bajas de AGV indican que la actividad microbiana y la cantidad de sustrato fermentado en el ciego de los lechones alimentados con la dieta baja en PC es también menor.

Otros metabolitos de la fermentación microbiana de la proteína indigerida son las aminos. Estos son formados vía descarboxilación de los AA y poliaminas (Gaskins, 2000). En este estudio, la disminución en la PC de la dieta también redujo ( $P = 0.002$ ) la concentración de una de las aminos principales, llamada putrescina, en la digesta cecal (Cuadro 2.5). Similarmente, Schneider et al. (1989) reportó que la concentración de aminos en el intestino grueso de lechones alimentados con una dieta con 18% PC fue menor (4.9 vs. 9.6 mmol/kg MS) que en aquellos alimentados una dieta con 24% PC. Las concentraciones de cadaverina en la digesta cecal, sin embargo, no fueron afectadas por el contenido de PC en la dieta. La reducción en la concentración de putrescina en la digesta del ciego es un indicador de una reducción en la fermentación microbiana de la proteína indigerida. Por lo tanto es un efecto benéfico en la salud del TGI porque un incremento en la producción de aminos, en particular con altas concentraciones de putrescina y cadaverina, fue asociada con diarrea en lechones recién destetados (Porter and Kenworthy, 1969). Es bien aceptado que al reducir los niveles de proteína y balanceando con AA se reduce la excreción de N total (Zervas and Zijlstra, 2002; Shriver et. al., 2003) y la emisión de amoniaco (Canh et al., 1998) de los desechos de los cerdos

## **Implicaciones**

El resultado de este estudio demuestra que al disminuir los niveles de proteína en la dieta (adicionando AA) también se reduce las concentraciones de metabolitos microbianos en el ciego, esto puede ser usado como estrategia de alimentación para reducir la fermentación microbiana de la proteína indigerida y la formación de amoniaco, AGV y aminas en el ciego.

## Literatura Citada

- Canh, T. T., A. L. Sutton, A. J. A. Aarnink, M. W. A. Verstegen, J. W. Schrama, and G. C. M. Bakker. 1998. Dietary carbohydrates alter the fecal composition and pH and the ammonia emission from slurry of growing pigs. *J. Anim. Sci.* 76:1887–1895.
- CCAC. 1993. Guide to the care and use of experimental animals. (Edited by: Ernest D. Olfert, DVM; Brenda M. Cross, DVM; and A. Ann McWilliam). Vol. 1.
- Cranwell, P. D. 1995. Development of the neonatal gut and enzyme systems. Pages 99–154 in *The Neonatal Pig: Development and Survival*. M. A. Varley, ed. Wallingford, U.K.
- Dong, G., Zhou A., Yang F., Chen K., Wang K., and D. Dao. 1996 Effect of dietary protein levels on the bacterial breakdown of protein in the large intestine, and diarrhoea in early weaned piglets. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica* 27, 293–302.
- Franklin, M. A., A. G. Mathew, J. R. Vickers, and R. A. Clift. 2002. Characterization of microbial populations and volatile fatty acid concentrations in the jejunum, ileum, and cecum of pigs weaned at 17 vs 24 days of age. *J. Anim. Sci.* 80:2904–2910.
- Gaskins, R. H., 2000. Intestinal bacteria and their influence on swine growth. In: *Swine Nutrition*, 2nd Edition, Eds. Austin J. Lewis and L. Lee Southern, CRC Press, New York. pp. 585–603.
- Kaufmann, C., W.C. Sauer, M. Cervantes, Y. Zhang, J. He and J. K. Htoo. 2005. Amino acid and energy digestibility in different sources of rice bran for growing pigs. *Can. J. Anim. Sci.* 85:355–363.
- Le, P. D., A. J. A. Aarnink, N. W. M. Ogink, P. M. Becker and M. W. A. Verstegen. 2005. Odour from animal production facilities: its relationship to diet. *Nutr. Res. Rev.* 18:3-30.

- Li, S., W. C. Sauer and M. Z. Fan. 1993. The effect of dietary crude protein level on ileal and fecal amino acid digestibility in early-weaned pigs. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 70:117–128.
- NRC. 1998. Pages 111–123 in *Nutrient Requirements of Swine*. 10<sup>th</sup> ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.
- Mackie, R. I., P. G. Stroot, and V. H. Varel. 1998. Biochemical identification and biological origin of key odor components in livestock waste. *J. Anim. Sci.* 76:1331-1342.
- Novozamsky, I., R. van Eck, J. Ch. van Schouwenburg, and I. Walinga. 1974. Total nitrogen determination in plant material by means of the indophenol-blue method. *Neth. J. Agric. Sci.* 22:3–5.
- Partanen, K. H., and Z. Mroz. 1999. Organic acids for performance enhancement in pig diets. *Nutr. Res. Rev.* 12: 117–145.
- Playne, M. J. 1985. Determination of ethanol, volatile fatty acids, lactic acid and succinic acids in fermentation liquids by gas chromatography. *J. Sci. Food Agric.* 36:638-644.
- Porter, P., and R. Kentworthy. 1969. A study of intestinal and urinary amines in pigs in relation to weaning. *Res Vet Sci.* 10:440-447.
- Rademacher, M., W. C. Sauer, and A. J. M. Jansman. 2000. Standardized ileal digestibility of amino acids in pigs. *The New System*. Degusa-Hülls, Germany.
- Samartzidou, H., and A. H. Delcour. 1999. Excretion of endogenous cadaverine leads to decrease in porin-mediated outer membrane permeability. *Journal of Bacteriology.* 181: 791-798.
- SAS. 1990. *SAS/STAT User's Guide (Release 6.03)*. SAS Inst. Inc., Cary, NC.

- Schneider, R., F. Kreienbring, G. Bolduan, and M. Beck. 1989. Biogenic amines in the digesta of swine. *J. Anim. Physiol. A. Anim. Nutr.* 39:1021-1029.
- Shriver, J. A. S., D. Carter, A. L. Sutton, B. T. Richert, B. W. Senne, and L. A. Pettey. 2003. Effects of adding fiber sources to reduced-crude protein, amino acid-supplemented diets on nitrogen excretion, growth performance, and carcass traits of finishing pigs. *J. Anim. Sci.* 81:492-502.
- Tabor, C. W., and H. Tabor. 1984. Polyamines. *Ann. Rev. Biochem.* 53:749-790.
- Topping, D. L., J. M. Gooden, I. L. Brown, D. A. Biebrick, L. McGrath, R. P. Trimble, M. Choct, and R. J. Illman. 1997. A high amylose (amylomaize) starch raises proximal large bowel starch and increases colon length in pigs. *J. Nutr.* 127:615-622.
- Visek, W. J. 1978. The mode of growth promotion by antibiotics. *J. Anim. Sci.* 46: 1447-1469.
- Zervas, S., and R. T. Zijlstra. 2002a. Effects of dietary protein and fermentable fiber on nitrogen excretion patterns and plasma urea in grower pigs. *J. Anim. Sci.* 80:3247-3256.

**Cuadro 2.1.** Composición de las dietas experimentales, tal como se ofrece

Componente de la dieta	Dieta	
	24% PC	20% PC
<i>Ingredientes, %</i>		
Trigo	30.00	30.96
Frijol soya procesado por calentamiento	23.94	3.54
Maíz	19.04	36.89
Suero de leche en polvo	10.00	10.00
Harina de pescado, 64% PC	6.00	6.00
Plasma sanguíneo	5.00	5.00
Leche descremada en polvo	2.50	2.50
Aceite de soya	1.84	2.09
Piedra caliza	0.77	0.65
Fosfato dicalcico	0.08	0.43
Biolisina	0.18	0.76
DL-Metionina	0.08	0.16
L-Treonina	–	0.13
L-Isoleucina	0.02	0.20
L-Triptófano	–	0.04
L-Valina	–	0.10
Cloruro de colina <sup>a</sup>	0.05	0.05
Premezcla <sup>b</sup>	0.20	0.20
Oxido crómico	0.30	0.30
<i>Contenido de nutrientes calculado</i>		
Materia seca, %	89.4	89.6
Energía Metabolizable, MJ/kg	14.87	14.63
Energía Neta, MJ/kg	10.70	10.70
Proteína cruda, %	24.72	20.03
Isoleucina, %	0.97	0.88
Lisina, %	1.56	1.46
Metionina, %	0.48	0.49
Treonina, %	1.03	0.93
Triptófano, %	0.31	0.27
Valina, %	1.19	1.03
Lisina DIE, % <sup>c</sup>	1.36	1.33
Metionina + Cistina DIE, % <sup>c</sup>	0.82	0.80
Treonina DIE, % <sup>c</sup>	0.87	0.83
Triptofano DIE, % <sup>c</sup>	0.27	0.24
Fósforo, %	0.65	0.65
Calcio, %	0.80	0.80

<sup>a</sup>Cloruro de Colina provee 600 g cloruro de colina por Kilogramo.

<sup>b</sup>La premezcla provee por Kilogramo de dieta: vitamina A, 10,000 IU; vitamina D<sub>3</sub>, 1,000 IU; vitamina E, 80 IU; vitamina K<sub>3</sub>, 2.0 mg; vitamina B<sub>12</sub>, 0.03 mg; riboflavina, 12 mg; niacina, 40 mg; D-acido pantoteico, 25 mg; biotina, 0.25 mg; acido folico, 1.6 mg; tiamina, 3.0 mg; y piridoxine, 2.25 mg; Fe (sulfato ferroso), 150 mg; Zn (carbonato de zinc), 150 mg; Mn (sulfato de manganeso), 40 mg; Cu (sulfato de cobre), 25 mg; I (Ioduro de potasio), 0.21 mg; Co (sulfato de cobalto), 0.5 mg; Se (selenito de sodio), 0.3 mg; and Etoxiquina, 5.0 mg.

<sup>c</sup>DIE = Digestible ileal estandarizada.

**Cuadro 2.2.** Composición analizada de las dietas experimentales

Componentes de las dietas	Dieta 24% PC	Dieta 20% PC
Proteína cruda, %	25.48	19.87
<i>Aminoácidos esenciales, %</i>		
Arginina	1.44	1.00
Histidina	0.58	0.44
Isoleucina	0.99	0.89
Leucina	1.96	1.61
Lisina	1.57	1.48
Metionina	0.48	0.48
Metionina + Cistina	0.93	0.85
Fenilalanina	1.24	0.94
Treonina	0.99	0.77
Valina	1.21	0.96
<i>Aminoácidos no-esenciales, %</i>		
Alanina	1.14	0.96
Ácido Aspártico	2.22	1.51
Cistina	0.45	0.37
Ácido Glutámico	4.78	3.81
Glicina	1.07	0.83
Serina	1.16	0.88

<sup>a</sup>Los Valores están ajustados a 88% de contenido de MS.

**Cuadro 2.3.** Efecto del contenido de proteína en la dieta sobre el pH y la concentración de N amoniacal en la digesta cecal de lechones .

Item	Dietas		valor- <i>P</i>	EEM <sup>a</sup>
	24% PC	20% PC		
pH	6.33	6.07	0.473	0.29
N amoniacal (mg/L)	47.98 <sup>b</sup>	32.49 <sup>c</sup>	0.0009	3.58

<sup>a</sup>error estandar de la media (n = 8).

<sup>b, c</sup>Medias en la misma hilera con diferente literal son diferentes estadísticamente ( $P < 0.05$ ).

**Cuadro 2.4.** Efecto del contenido de proteína en la dieta sobre la concentración de ácidos grasos volátiles en la digesta cecal de lechones.

Variable (mmol/L)	Dietas		valor- <i>P</i>	EEM <sup>a</sup>
	24% PC	20% PC		
Acético	51.94 <sup>b</sup>	36.52 <sup>c</sup>	0.016	3.54
Propiónico	23.13	17.94	0.095	2.37
Butírico	8.28	5.63	0.099	1.11
Isobutírico	0.20 <sup>b</sup>	0.11 <sup>c</sup>	0.021	0.03
Valérico	1.32	1.37	0.890	0.29
Isovalérico	0.30 <sup>b</sup>	0.14 <sup>c</sup>	0.005	0.04
Caproico	0.09	0.06	0.286	0.02
AGV total	85.27 <sup>b</sup>	61.78 <sup>c</sup>	0.036	7.12

<sup>a</sup>error estandar de la media (n = 8).

<sup>b, c</sup>Medias en la misma hilera con diferente literal son diferentes estadísticamente ( $P < 0.05$ ).

**Cuadro 2.5.** Efecto del contenido de proteína en la dieta sobre las concentraciones de amidas seleccionadas en la digesta cecal de lechones

Variable (mmol/L)	Dietas		valor- <i>P</i>	EEM <sup>a</sup>
	24% PC	20% PC		
Putrescina (mmol/L)	0.88 <sup>b</sup>	0.54 <sup>c</sup>	0.002	0.07
Cadaverina	0.58	0.58	0.969	0.08

<sup>a</sup>error estandar de la media (n = 8).

<sup>b, c</sup>Medias en la misma hilera con diferente literal son diferentes estadísticamente ( $P < 0.05$ ).

## **Experimento 3**

**Desempeño de lechones destetados alimentados con dietas alta o baja en  
proteína adicionadas con aminoácidos limitantes**

**RESUMEN:** Se condujo un experimento con lechones destetados para determinar el efecto del nivel de proteína cruda (**PC**) en la dieta en el desempeño e incidencia de diarrea. Después de un periodo de adaptación de 5-d, 32 lechones fueron asignados a dos dietas experimentales de acuerdo al diseño bloques completos al azar. Se formularon dos dietas para contener 24 ó 20% de PC usando trigo, maíz y soya integral procesada por calentamiento como principales ingredientes. Las dietas fueron adicionadas con aminoácidos AA (Lis, Met, Tre, Ile, Trp and Val) para satisfacer sus aportes digestibles verdaderos de acuerdo a los estándares de NRC (1998). Se utilizaron cuatro jaulas por tratamiento con cuatro lechones cada una como repetición. Cada jaula estuvo equipada con piso térmico de plástico, un comedero automático de cuatro bocas, y un chupón automático de baja presión para el agua. El alimento y el agua fueron ofrecidos ad libitum. Se tomó el peso vivo individual y el consumo de alimento semanal para calcular ganancia diaria de peso (GDP), y consumo diario de alimento (CDA), y relación ganancia:alimento. La incidencia y severidad de diarrea fue monitoreada. La GDP, el CDA y ganancia:alimento no fueron afectadas ( $P > 0.05$ ) por el nivel de PC en la dieta durante las semanas 1, 2, y 3 y durante todo el periodo (d 0 a 21). No se observó incidencia de diarrea a través del experimento y la consistencia de las heces no fue afectada ( $P > 0.5$ ) por los tratamientos.

**Palabras clave:** desempeño, diarrea, lechones, proteína

**ABSTRACT:** An experiment was conducted with weanling pigs to determine the effect of dietary protein levels on the performance and incidence of diarrhea. Following a 5-d adaptation period, 32 piglets were assigned to two experimental diets according to a randomized complete block design. Two diets were formulated to contain 24 or 20% CP by using wheat, corn and full-fat soybean as the main ingredients. The diets were supplemented with AA (Lys, Met, Thr, Ile, Trp and Val) to meet their true digestible supplies according to NRC (1998) standards. There were four pen replicates per treatment and four pigs per pen. Each pen was equipped with tenderfoot flooring, an automatic four-hole feeder, and an automatic nipple drinker. The diets and water were provided ad libitum. Individual BW and feed intake were recorded weekly to calculate ADG, ADFI, and gain:feed ratio. The incidence and severity of diarrhea were monitored. Average daily gain, ADFI and feed:gain were not affected ( $P > 0.05$ ) by dietary treatments during wk 1, 2, and 3 and during the overall period (d 0 to 21). No incidence of diarrhea was observed throughout the experiment and the fecal consistency scores were not affected ( $P > 0.5$ ) by the dietary treatments.

Key Words: Diarrhea, Performance, Piglets, Protein

## **Materiales y Métodos**

### *Animales, alojamiento, y procedimiento experimental*

Treinta y dos lechones cruzados (Large white/Landrace × Duroc) ambos sexos, con PV inicial promedio de  $7.5 \pm 0.9$  kg, fueron obtenidos inmediatamente después del destete a 19 d de edad del Centro de Investigación y Tecnología de Cerdos de la Universidad de Alberta. Mientras se encontraban con la cerda, los lechones fueron proveídos con alimento preiniciador. Los cerdos fueron alojados en jaulas a nivel del piso  $1.1 \times 1.5$  m a temperatura controlada en la sala de destete. La temperatura de la sala fue inicialmente establecida a  $31^{\circ}\text{C}$  y gradualmente reducida cada semana a  $1^{\circ}\text{C}$ . Para la aclimatación al corral y alcanzar un consumo normal de alimento, los lechones tuvieron un periodo de 5-d de adaptación, durante el cual se les ofreció una dieta de iniciación (23% PC). Después del periodo de adaptación, los lechones, promediaron un PV inicial de  $8.2 \pm 0.8$  kg, se construyeron bloques en base PV, camada y sexo, y se distribuyeron en dos tratamientos de acuerdo al diseño de bloques completos al azar. Se tuvieron cuatro corrales por tratamiento y con cuatro lechones cada uno como unidad experimental. Cada jaula fue equipada con piso de plástico térmico ranurado, un comedero automático de cuatro bocas, y un chupón automático de baja presión. La propuesta del experimento fue aprobada por el comité de cuidado animal de la escuela de Agricultura de la Universidad de Alberta y el cuidado proporcionado a los lechones fue de acuerdo con la guía establecida por el CCAC (1993).

### *Dietas experimentales y alimentación*

Se formularon dos dietas experimentales para contener 24 ó 20% de PC utilizando trigo, maíz y soya integral procesada por calentamiento como ingredientes principales (Cuadro 3.1). Las dietas fueron formuladas para contener el mismo aporte de Energía Neta.

Las dietas, cuando fue necesario, fueron adicionadas con los AA (Lis, Met, Tre, Ile, Trp y Val), proveídos por Degussa-Hüls AG (Hanau-Wolfgang, Alemania), para satisfacer los aportes digestibles verdaderos estandarizados de acuerdo con NRC (1998). La tasa de aporte DIE de Met más Cis, Tre y Trp en relación al DIE de Lis en las dietas fue balanceado de acuerdo al perfil de AA ideal para cerdos de 10 a 20 kg tal como lo sugiere Rademacher et al. (2000). Los ingredientes que contribuyeron al contenido de AA en la dieta fueron analizados para conocer su perfil de AA, estos fueron después utilizados en la formulación de la dieta. Previo al mezclado de las dietas, el trigo y el maíz fueron molidos a través de un tamiz con orificios de 2-mm de diámetro. Las dietas fueron adicionadas con fosfato di cálcico para contener 0.80% Ca y 0.65% de P total. Se añadió aceite de soya a las dietas para incrementar el contenido de Energía Metabolizable al nivel recomendado por NRC (1998). Las vitaminas y minerales fueron adicionadas para cumplir o exceder los requerimientos recomendados por NRC (1998) para cerdos de 5 a 10 kg de PV. Las dietas y el agua fueron proveídas ad libitum. Las dietas fueron proporcionadas en forma molida.

### *Mediciones*

El PV individual y el consumo de alimento por corral fueron registrados semanalmente para calcular GDP, CDP, y EA. Además, fue monitoreada la incidencia y severidad de la diarrea, se asignó un valor numérico basándose en un puntaje de apreciación visual descrito por Ball and Aherne (1987).

### *Análisis Químicos y Estadísticos*

El contenido de AA y PC de los ingredientes y de las dietas fue determinado por Degussa AG. El procedimiento para el análisis de AA fue descrito previamente en detalle por Kaufmann et al. (2005). Los datos fueron sujetos a análisis estadístico en un diseño de

bloques completos al azar. Las diferencias entre tratamientos fueron determinadas usando el procedimiento PROC MIXED del programa estadístico SAS (SAS Inst., Inc., Cary, NC). La jaula fue usada como unidad experimental para determinar el efecto del tratamiento.

## Resultados y discusión

### *Análisis de dietas y salud animal*

La composición de CP y AA de las dietas experimentales se presenta en el Cuadro 3.2. La diferencia en el contenido de CP entre las dietas alta y baja en CP fue de 4 unidades porcentuales. Los valores analizados de PC y AA en ambas dietas fueron similares a los valores calculados en base a los valores analizados en los ingredientes. El PV promedio de los lechones fue de  $8.2 \pm 0.8$  kg al inicio y de  $17 \pm 2.1$  kg en la conclusión del experimento.

### *Desempeño de los lechones*

El efecto de los tratamientos en el desempeño de los lechones y en el valor de las consistencias de las heces se presentan en el Cuadro 3.3. La ganancia diaria de peso, el consumo diario de alimento y la eficiencia alimenticia no se afectaron ( $P > 0.05$ ) por el tratamiento durante la semana 1, 2 y 3 y durante todo el periodo de iniciación (d 0 a 21). Sin embargo, los valores de GDP ( $P = 0.058$ ) tendieron a ser mayores durante la semana 3. Los resultados de este estudio coinciden con los resultados obtenidos por Hansen et al. (1993) quienes reportan que la GDP, CDA y EA de lechones de 5-20 kg alimentados con una dieta sorgo-pasta de soya con 17% PC fortificada con Lis, Met, y Tre fueron similares a aquellas obtenidas cuando se alimentaba con dietas con 21% de PC. Por el contrario, Nyachoti et al. (2006) reportan menor GDP y CDA de lechones alimentados con 17 ó 19% de PC en la dieta suplementada con Lis comparado con una dieta con 23% de PC. Los autores sugieren el desempeño pobre de los lechones alimentados con las dietas con 17 y 19% de PC resultaron de la deficiencia de Ile y Val. Estudios previos (Kerr et al., 1995; Kerr et al., 2003; Shriver et al. 2003) con cerdos en crecimiento han demostrado que al

reducir el contenido de PC en la dieta y balanceando estas en base a AA limitantes, se obtiene un desempeño similar al de aquellos cerdos alimentados con dietas altas en PC.

No se observó incidencia de diarrea a lo largo del experimento. El valor de la consistencia de las heces en este estudio fue cercano a lo norma y no fue afectado ( $P > 0.5$ ) por el tratamiento, lo cual coincide con los resultados reportados por Le Bellego et al. (2002) y Nyachoti et al. (2006).

Es bien aceptado que al reducir el contenido de PC en la dieta, y balanceando esta en base a AA limitantes, se va disminuir la excreción total de N (Zervas and Zijlstra, 2002; Shriver et. al., 2003) y la emisión de amoniaco (Canh et al., 1998) de los desechos de los cerdos. Adicionalmente, al disminuir el contenido de PC (suplementando con AA) también se reduce la concentración de metabolitos microbianos en el ciego. Sin embargo, el desempeño de los lechones no debe de ser disminuido cuando el nivel de PC en la dieta es reducido.

## **Implicaciones**

Los resultados de este estudio indican que el contenido de PC en la dieta se puede reducir de 24 a 20% sin comprometer el desempeño de los lechones alimentados con dietas de iniciación cuando se adicionan AA para satisfacer los rangos de AA ileal digestibles estandarizados en un perfil ideal de AA.

## Literatura Citada

- Ball, R. O. and F. X. Aherne. 1987. Influence of dietary nutrient density, level of feed intake and weaning age on young pigs. II. Apparent nutrient digestibility and incidence and severity of diarrhea. *Can. J. Anim. Sci.* 67:1105–1115.
- Canh, T. T., A. L. Sutton, A. J. A. Aarnink, M. W. A. Verstegen, J. W. Schrama, and G. C. M. Bakker. 1998. Dietary carbohydrates alter the fecal composition and pH and the ammonia emission from slurry of growing pigs. *J. Anim. Sci.* 76:1887–1895.
- CCAC. 1993. Guide to the care and use of experimental animals. (Edited by: Ernest D. Olfert, DVM; Brenda M. Cross, DVM; and A. Ann McWilliam). Vol. 1.
- Hansen, J. A., D. A. Knabe, and K. G. Burgoon. 1993. Amino acid supplementation of low-protein sorghum-soybean meal diets for 5- to 20-kilogram swine. *J. Anim. Sci.* 71:452–458.
- Kaufmann, C., W.C. Sauer, M. Cervantes, Y. Zhang, J. He and J. K. Htoo. 2005. Amino acid and energy digestibility in different sources of rice bran for growing pigs. *Can. J. Anim. Sci.* 85:355–363.
- Kerr, B. J., F.K. McKeith, and R.A. Easter. 1995. Effect of performance and carcass characteristics of nursery to finisher pigs fed reduced crude protein, amino acid-supplemented diets. *J. Anim. Sci.* 73:433–440.
- Kerr, B. J., L. L. Southern, T. D. Bidner, K. G. Friesen, and R.A. Easter. 2003. Influence of dietary protein level, amino acid supplementation, and dietary energy levels on growing-finishing pig performance and carcass composition. *J. Anim. Sci.* 2003. 81:3075–3087.
- Le Bellego L. and J. Noblet, 2002. Performance and utilization of dietary energy and amino acids in piglets fed low protein diets. *Livest. Prod. Sci.* 76: 45-58.

- NRC. 1998. Pages 111–123 in *Nutrient Requirements of Swine*. 10<sup>th</sup> ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.
- Nyachoti, C. M., F. O. Omogbenigun, M. Rademacher, and G. Blank. 2006. Performance responses and indicators of gastrointestinal health in earlyweaned pigs fed low-protein amino acid-supplemented diets. *J. Anim. Sci.* 84:125–134.
- Rademacher, M., W. C. Sauer, and A. J. M. Jansman. 2000. Standardized ileal digestibility of amino acids in pigs. *The New System*. Degusa-Hülls, Germany.
- Shriver, J. A. S., D. Carter, A. L. Sutton, B. T. Richert, B. W. Senne, and L. A. Pettey. 2003. Effects of adding fiber sources to reduced-crude protein, amino acid supplemented diets on nitrogen excretion, growth performance, and carcass traits of finishing pigs. *J. Anim. Sci.* 81:492-502.
- Zervas, S., and R. T. Zijlstra. 2002a. Effects of dietary protein and fermentable fiber on nitrogen excretion patterns and plasma urea in grower pigs. *J. Anim. Sci.* 80:3247-3256.

**Cuadro 3.1.** Composición de las dietas experimentales, tal como se ofrece

Ingredientes, %	Dieta	
	24% PC	20% PC
Trigo	30.00	30.00
Soya procesada por calentamiento	25.72	9.69
Maíz	17.77	32.48
Suero de leche en polvo	10.00	10.00
Harina de pescado, 64% PC	6.00	6.00
Plasma sanguíneo	5.00	5.00
Leche descremada en polvo	2.50	2.50
Aceite de soya	1.83	2.03
Piedra caliza	0.78	0.69
Fosfato di cálcico	0.05	0.33
Biolisina	0.02	0.56
DL-Metionina	0.08	0.16
L-Treonina	–	0.10
L-Isoleucina	–	0.16
L-Triptófano	–	0.02
L-Valina	–	0.03
Cloruro de colina <sup>a</sup>	0.05	0.05
Premezcla <sup>b</sup>	0.20	0.20
<i>Contenido de nutrientes calculado</i>		
Materia seca	89.4	89.4
Energía metabolizable, Mcal/kg	3.557	3.514
Energía neta, Mcal/kg	2.556	2.556
Proteína cruda, %	24.00	20.00
Isoleucina, %	0.93	0.87
Lisina, %	1.50	1.44
Metionina, %	0.47	0.49
Treonina, %	1.02	0.93
Triptofano, %	0.31	0.26
Valina, %	1.21	1.04
Lisina DIE, % <sup>c</sup>	1.30	1.30
Metionina + Cistina DIE, % <sup>c</sup>	0.79	0.78
Treonina DIE, % <sup>c</sup>	0.86	0.82
Triptófano DIE, % <sup>c</sup>	0.27	0.23
Fósforo, %	0.65	0.65
Calcio, %	0.80	0.80

<sup>a</sup>Cloruro de Colina provee 600 g cloruro de colina por Kilogramo.

<sup>b</sup>La premexcla provee por Kilogramo de dieta: vitamina A, 10,000 IU; vitamina D<sub>3</sub>, 1,000 IU; vitamina E, 80 IU; vitamina K<sub>3</sub>, 2.0 mg; vitamina B<sub>12</sub>, 0.03 mg; riboflavina, 12 mg; niacina, 40 mg; D-acido pantoteico, 25 mg; biotina, 0.25 mg; acido folico, 1.6 mg; tiamina, 3.0 mg; y piridoxine, 2.25 mg; Fe (sulfato ferroso), 150 mg; Zn (carbonato de zinc), 150 mg; Mn (sulfato de manganeso), 40 mg; Cu (sulfato de cobre), 25 mg; I (Ioduro de potasio), 0.21 mg; Co (sulfato de cobalto), 0.5 mg; Se (selenito de sodio), 0.3 mg; and Etoxiquina, 5.0 mg.

<sup>c</sup>DIE = Digestible ileal estandarizada.

**Cuadro 3.2.** Composición analizada de proteína y aminoácidos de las dietas experimentales<sup>1</sup>

Componente de la dieta	Dieta 24% PC	Dieta 20% PC
Proteína Cruda, %	23.93	20.01
<i>Aminoácidos esenciales, %</i>		
Arginina	1.43	1.10
Histidina	0.60	0.50
Isoleucina	0.96	0.91
Leucina	1.87	1.63
Lisina	1.46	1.49
Metionina	0.45	0.48
Metionina + Cistina	0.88	0.87
Fenilalanina	1.09	0.90
Treonina	1.00	0.95
Triptófano	0.31	0.27
Valina	1.18	1.03
<i>Aminoácidos no esenciales, %</i>		
Alanina	1.14	1.02
Ácido aspártico	2.20	1.71
Cistina	0.43	0.38
Ácido Glutámico	4.33	3.60
Glicina	1.07	0.90
Serina	1.16	0.98
Prolina	1.51	1.32

<sup>1</sup>Los Valores están ajustados a 88% de contenido de MS.

**Cuadro 3.3.** Efecto del contenido de PC en la dieta sobre el desempeño de lechones

Variable	Dietas		P-valor	EEM <sup>a</sup>
	24% PC	20% PC		
PV inicial, kg	8.2	8.1	0.194	0.26
PV final, kg	17.3	16.7	0.403	0.67
GDP, g/d				
d 0 a 7	272	243	0.332	23.65
d 7 a 14	481	422	0.374	40.07
d 14 a 21	531	565	0.058	14.05
d 0 a 21	429	410	0.529	23.01
CDP, g/d				
d 0 a 7	379	373	0.794	20.83
d 7 a 14	612	555	0.342	37.80
d 14 a 21	789	788	0.979	40.38
d 0 a 21	593	572	0.491	29.73
Eficiencia alimenticia				
d 0 a 7	0.72	0.65	0.231	0.04
d 7 a 14	0.79	0.75	0.455	0.03
d 14 a 21	0.68	0.72	0.161	0.02
d 0 a 21	0.72	0.72	0.783	0.01
Consistencia heces <sup>b</sup>				
d 0 a 21	0.17	0.18	0.690	0.04

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

<sup>b</sup>Consistencia de las heces: 0 = normal, 1 = poca diarrea, 2 = diarrea moderada, y 3 = diarrea severa.

## Literatura Citada Introducción

- Aherne, F., M. G. Hogberg, E. T. Kornegay, G. C. Shurson, M. Brocksmith, S. Broksmith, G. R. Hollis and J. E. Pettigrew. 1992. Management and nutrition of the newly weaned pig. PIH 111. National Pork Producers Handbook.
- Ball, R. O. and F. X. Aherne. 1987. Influence of dietary nutrient density, level of feed intake and weaning age on young pigs. II. Apparent nutrient digestibility and incidence and severity of diarrhea. *Can. J. Anim. Sci.* 67:1105–1115.
- Decuyper, J. and H. Van der Heyde. 1972. Study of the gastrointestinal microflora of suckling piglets and early weaned piglets reared using different feeding systems. *Zentralbl. Bakteriol. Parasitenkd. Infektionsk. Hyg. I A221*: 492–510.
- Dong, G., Zhou A., Yang F., Chen K., Wang K., and D. Dao. 1996. Effect of dietary protein levels on the bacterial breakdown of protein in the large intestine, and diarrhoea in early weaned piglets. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica* 27, 293–302.
- Gaskins, R. H., 2000. Intestinal bacteria and their influence on swine growth. In: *Swine Nutrition*, 2nd Edition, Eds. Austin J. Lewis and L. Lee Southern, CRC Press, New York. pp. 585–603.
- Hobbs, P. J., B. F. Pain, R. M. Kay, and P. A. Lee. 1996. Reduction of odorous compounds in fresh pig slurry by dietary control of crude protein. *J. Sci. Food Agric.* 71:508–514.
- Nollet, H., P. Deprez, E. Van Driessche and E. Muylle. 1999. Protection of just weaned pigs against infection with F18<sup>+</sup> *Escherichia coli* by non-immune plasma powder. *Veterinary Microbiology.* 65: 37-45.

Porter, P., and R. Kentworthy. 1969. A study of intestinal and urinary amines in pigs in relation to weaning. *Res Vet Sci.* 10:440-447.

Vissek, W. J. 1978. The mode of growth promotion by antibiotics. *J. Anim. Sci.* 46: 1447-1469.