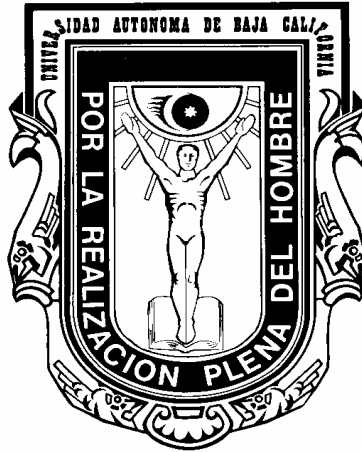


UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BAJA CALIFORNIA

INSTITUTO DE CIENCIAS AGRICOLAS



**INFUSION DUODENAL DE PANCREATINA A CERDOS EN CRECIMIENTO
EN DIETAS SORGO-PASTA DE SOYA ADICIONADAS CON FITASA**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS EN SISTEMAS DE PRODUCCIÓN ANIMAL

PRESENTA

SALVADOR FIERRO GÓMEZ

DIRECTOR DE TESIS

Ph. D. MIGUEL CERVANTES RAMIREZ

EJIDO NUEVO LEÓN, MEXICALI, BAJA CALIFORNIA, MÉXICO; DICIEMBRE DE 2006

La presente tesis titulada “**Infusión duodenal de pancreatina a cerdos en crecimiento en dietas sorgo-pasta de soya adicionadas con fitasa.**”, realizada por el **C. Salvador Fierro Gómez**; 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:

MAESTRO EN CIENCIAS EN SISTEMAS DE PRODUCCION ANIMAL

Consejo Particular

PRESIDENTE _____

Ph. D. Miguel Cervantes Ramírez

SINODAL _____

Ph. D. Willem Cornelis Sauer

SINODAL _____

Dra. Noemi Guadalupe Torrentera Olivera

SINODAL _____

M. C. Salvador Espinoza Santana

“POR LA REALIZACION PLENA DEL HOMBRE”

Dedicatoria

Agradecimientos

CONTENIDO

CONSEJO PARTICULAR	i
CONTENIDO.....	iv
INDICE DE CUADROS	v
RESUMEN	vi
ABSTRACT	vii
I. INTRODUCCION	1
II. REVISION DE LITERATURA.....	3
2.1. Ingredientes frecuentes en alimentos para cerdos en México	3
2.1.1. Sorgo	3
2.1.2. Pasta de soya	4
2.2. Proteína.....	5
2.2.1. Aminoácidos esenciales y no esenciales.....	7
2.2.2. Aminoácidos limitantes y sintéticos.....	8
2.2.3. Fisiología digestiva de las proteínas.....	9
2.2.4. Dietas bajas en proteína	10
2.3. Utilización de enzimas exógenas en nutrición animal	12
2.4. Mecanismo de respuesta en la secreción enzimática del páncreas....	13
2.5. Actividad de enzimas pancreáticas en el cerdo	16
2.6. Actividad de la fitasa	17
2.6.1. Composición química del ácido fitico	17
2.6.2. Utilización de fitasa en dietas para cerdos.....	18
2.6.3. Acción de fitasa sobre la disponibilidad de nutrientes en la dieta	20
2.6.4. Factores que influyen en la eficacia nutricional de la fitasa	23
III. MATERIALES Y METODOS	26
3.1. Localización	26
3.2. Animales y procedimientos	26
3.3. Análisis estadístico.....	32
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	34
V. CONCLUSIONES	39
VI. LITERATURA CITADA	40

INDICE DE CUADROS

Cuadro	pp
1. Coeficiente de digestibilidad aparente de aminoácidos esenciales en sorgo y maíz en dietas para cerdos en crecimiento.....	2
2. Efecto de la adición de fitasa en la digestibilidad ileal aparente (%) de proteína cruda y aminoácidos en dietas trigo-pasta de soya-pasta de canola en cerdos recién destetados.....	21
3. Digestibilidad ileal aparente de proteína cruda, aminoácidos, Ca y P, en dietas experimentales para cerdos en crecimiento.....	23
4. Composición (%) y asignación de las dietas experimentales por tratamientos.....	28
5. Descripción de las enzimas ^a utilizadas en el experimento.....	30
6. Composición analizada de aminoácidos de la dieta base (% materia seca) ^a que se utilizó para los cuatro tratamientos.....	31
7. Representación algebraica del análisis de varianza para el Diseño en Bloques Completos al Azar que se aplicó en el experimento.....	33
8. Efecto de la infusión duodenal de pancreatina en la digestibilidad ileal aparente ^a de aminoácidos (%) en dietas sorgo-pasta de soya adicionadas con fitasa para cerdos en crecimiento.....	34
9. Comparación de medias entre tratamientos del efecto de la infusión duodenal de pancreatina en la digestibilidad ileal aparente de aminoácidos en dietas sorgo-pasta de soya adicionadas con fitasa para cerdos en crecimiento ^a	35

RESUMEN

Ocho cerdos castrados (Yorkshire-Landrace-Hamshire) con peso promedio de 38.3 ± 2.8 kg se adaptaron quirúrgicamente con dos cánulas tipo “T”, una en duodeno proximal y otra en íleon terminal para evaluar el efecto de la infusión duodenal de pancreatina y/o adición de fitasa a dietas para cerdos en crecimiento (sorgo-pasta de soya) sobre la digestibilidad ileal aparente (**DIA**) de aminoácidos (**AA**). Se evaluaron 4 dietas, T1=dieta base (sorgo-pasta de soya, 13.06% de proteína cruda); T2=dieta base+fitasa (1000 FTU kg^{-1} de dieta); T3=dieta base+pancreatina (591 mg kg^{-1} de dieta infundida en duodeno); T4=dieta base+fitasa+pancreatina., al inicio del experimento se perdió una unidad experimental por lo tanto los cerdos fueron distribuidos con base a un diseño de bloques completos al azar en lugar de un diseño cuadro Latino 4 x 4 repetido, y se realizó comparación de medias entre tratamientos. No hubo efecto sobre la DIA de ninguno de los AA esenciales y no esenciales con la adición de fitasa y/o la infusión duodenal de pancreatina ($P > 0.10$). En promedio, la DIA de los AA esenciales fue 3.18 unidades porcentuales mayor que los no esenciales. Los resultados sugieren que la adición de fitasa y la infusión duodenal de pancreatina a dietas para cerdos en crecimiento no mejora la DIA de AA.

Palabras clave: Aminoácidos, cerdos, digestibilidad, fitasa, pancreatina.

ABSTRACT

Eight barrows (Yorkshire-Landrace-Hampshire) with an average of body weight of 38.3 ± 2.8 kg were fitted with two T-cannulas one in duodenum and other in terminal ileum to evaluate the effect of the duodenal infusion of pancreatine and/or supplementation of phytase to growing pigs diets (sorghum-soy bean meal) on apparent ileal digestibility (**AID**) of amino acids (**AA**). Four diets were evaluated, T1=base diet (sorghum-soy bean meal, 13.06% of crude protein); T2=base diet+phytase (1,000 FTU kg⁻¹ of meal); T3=base diet+pancreatine (591 mg kg⁻¹ of meal); T4=base diet+phytase+pancreatine. At the beginning of the experiment one experimental unit was missing so the pigs were distributed in a randomized complete block design instead of replicated 4 X 4 Latin square design, and means were compared. There was no effect on AID of essential and no-essential AA with phytase supplementation and/or duodenal infusion of pancreatine ($P > 0.10$). The AID of essential AA was 3.18 percentage units higher than no-essentials AA. The results suggest that phytase supplementation and duodenal pancreatine infusion to growing pigs diets do not improve AID of AA.

Keys words: Amino acids, digestibility, pancreatine, pigs, phytase

I. INTRODUCCION

El perfil de aminoácidos de los ingredientes utilizados en la formulación de dietas para cerdos no se ajusta a las necesidades nutricionales de los animales, es decir, en estas dietas existen excesos de arginina, leucina, fenilalanina y tirosina (NRC, 1998), el exceso de aminoácidos resulta no solo en una deficiente utilización de los mismos, ya que el animal no puede transformarlos en proteína corporal, además de que pueden contribuir a disminuir la eficiencia productiva del animal. En dietas para cerdos a base de sorgo-pasta de soya, el primer aminoácido limitante es lisina y el segundo treonina, el requerimiento de lisina se satisface utilizando estos ingredientes con 16% de proteína (NRC, 1998) estas dietas contienen excedentes considerables de otros aminoácidos que se eliminan en forma de urea contaminando el ambiente por las descargas excesivas de este compuesto.

Las enzimas adicionadas a dietas para animales funcionan como biocatalizadores del proceso digestivo, aumentando la digestibilidad de proteína y carbohidratos, mejorando la eficiencia productiva del animal ya que se pueden utilizar ingredientes de menor valor biológico y económico en la dieta, resultando un comportamiento productivo similar (Bedford, 1995). La utilización de enzimas en dietas para cerdos ha aumentado junto con el desarrollo de nuevas tecnologías en la industria de alimentos para animales (Close, 1996). De acuerdo a lo anterior este estudio se realizó con el objetivo de evaluar el efecto de infundir pancreatina a nivel duodenal sobre la digestibilidad ileal aparente de aminoácidos en cerdos en crecimiento alimentados con dietas sorgo-pasta de

soya adicionadas con fitasa, para ello se planteo la hipótesis de que la infusión duodenal de pancreatina favorece la digestión ileal aparente de aminoácidos en cerdos en crecimiento alimentados con dietas sorgo-pasta de soya, adicionadas con fitasa.

II. REVISION DE LITERATURA

2.1. Ingredientes frecuentes en alimentos para cerdos en México

2.1.1. Sorgo

Los cereales constituyen más del 60% de las dietas para la alimentación de cerdos (Cromwell et al., 1974; Sauer et al., 1977; Fuller et al., 1979; NRC, 1998), sin embargo son deficientes en varios AA esenciales. Existe información que indica que la digestibilidad de AA limitantes como lisina, treonina y triptofano en cereales es baja con respecto a los demás AA esenciales (D'Mello, 1993; Fuller et al., 1979; Cervantes et al., 1991; 1992; 1999; Cervantes y Cromwell, 1992; NRC 1998). En el Cuadro 1 se presentan los coeficientes de digestibilidad de AA esenciales en sorgo y maíz, estos coeficientes pueden ser variables dependiendo de la calidad del grano de cada región (Cuca et al., 1996).

Cuadro 1. Coeficiente de digestibilidad aparente de AA esenciales en sorgo y maíz en dietas para cerdos en crecimiento.

	Sorgo	Maíz
Nitrógeno	81.5	79.6
AA esenciales		
Arginina	84.6	88.6
Histidina	80.9	85.1
Isoleucina	86.9	84.3
Leucina	91.0	89.7
Lisina	73.8	77.5
Metionina	88.0	87.7
Fenilalanina	92.1	90.6
Treonina	74.7	72.4
Tryptofano	79.7	69.6
Valina	85.0	83.7

Lin et al., 1987.

En México los cereales más utilizados para proporcionar energía en dietas para cerdos son sorgo, maíz y trigo. En el caso del sorgo pese a que es utilizado para aportar energía a la dieta, también aporta de 40 a 60% de la proteína cruda (**PC**) total de la ración. En el grano de sorgo se presenta gran variación en el contenido de PC de 5.4 a 13%, dependiendo en parte de la variedad que se trate, sin embargo, el aumento en el contenido de PC no necesariamente significa un aumento en la calidad de la misma especialmente cuando se trata de variedades con alto contenido de taninos (pigmentos fenólicos que causan astringencia al grano) que se pueden combinar con proteínas, celulosa y pectinas, afectando la solubilidad de la proteína del grano y disminuyendo su digestibilidad. Estudios realizados al respecto han demostrado que cuando el nivel de taninos es alto se reduce el contenido celular de almidón, carbohidratos solubles (Cuca et al., 1996) y la digestibilidad de la proteína (Lewis, 2001) lo cual repercute en el aporte energético y proteínico del grano.

2.1.2. Pasta de soya

La pasta de soya es la fuente de proteína mas utilizada en dietas para cerdos por su excelente perfil de aminoácidos (Rudolph et al., 1983), contiene 6.6% de lisina como porcentaje del contenido de PC (NRC, 1998). En la dieta se incluyen ingredientes proteínicos básicamente por dos razones, para aumentar la proteína total en la ración y para corregir las deficiencias de AA de los cereales (Fuller et al., 1979). Sin embargo la pasta de soya tiene la desventaja de que requiere tratamiento térmico para inactivar los factores antinutricionales

(Cuca et al., 1996). Si la pasta de soya se incluye cruda en la dieta provoca hipertrofia del páncreas y aumenta la actividad proteolítica originada por la estimulación de las células acini, a causa de los inhibidores de tripsina (factores antitripsinos); por lo que la soya debe ser bien procesada ya que si se sobrecalienta se pueden destruir AA y formar complejos AA-carbohidrato siendo insolubles y biológicamente no disponibles para el animal (Chang et al., 1987). Una pasta de soya mal procesada es la que no recibió el calor ni el tiempo suficiente para inactivar los factores inhibidores de tripsina o para evitar el daño a la proteína. Las variables que se utilizan para detectar soyas mal procesadas son: la ganancia de peso, el consumo de alimento, el peso del páncreas (índice fisiológico), la actividad ureásica y la solubilidad de la proteína (Cuca et al., 1996).

2.2. Proteína

Las proteínas son polímeros que se encuentran en todos los organismos, todas las proteínas están constituidas por unidades simples, los AA. En la dieta la función de la proteína es proporcionar las proteínas o los AA que las constituyen para que el organismo pueda realizar de manera normal las funciones de crecimiento y las relacionadas con la producción. En el caso de animales jóvenes en crecimiento los requerimientos de proteína son mayores que en animales adultos que solo requieren la cantidad suficiente de proteínas para el mantenimiento de los tejidos corporales. Animales en gestación y/o lactancia aumentan las necesidades de proteína por la síntesis de proteínas en

los productos de la concepción y la leche, así como una mayor intensidad metabólica. En algunos tejidos como el epitelial del tubo digestivo la renovación celular es muy rápida. (Church et al., 1996).

La proteína, se define como el nitrógeno contenido en los ingredientes multiplicado por el factor 6.25 (este factor no es constante varia dependiendo del ingrediente). Esta definición se basa en la suposición de que 100 g de proteína contienen 16 g de nitrógeno. Aunque los AA esenciales son necesarios para el metabolismo normal, usualmente no se requieren en la dieta ya que pueden ser sintetizados utilizando grupos amino derivados de AA presentes en exceso (NRC, 1998). En la actualidad las dietas para cerdos son formuladas con base a las necesidades de PC y AA totales para cubrir los requerimientos del primer aminoácido limitante (lisina), al respecto, el perfil de AA de los ingredientes utilizados para la formulación de dietas resulta ser mayor al requerimiento del cerdo (Kerr y Easter, 1995) esto representa un costo de alimento que no será utilizado por el animal y contaminación por descargas excesivas de nitrógeno en los suelos (Cervantes, 1997), además de una posible interacción entre los AA limitantes que se encuentran en exceso afectando la respuesta productiva del cerdo (Kerr, 1997). La recomendación de PC para cerdos de 20 a 50 kg peso vivo es de 15% en dietas maíz-pasta de soya (NRC, 1998), mientras que en dietas sorgo-pasta de soya se requiere un mínimo de 16.5% (Cervantes et al., 1991; Cervantes, 1997; Cervantes y Cromwell, 1992; 1997), estos niveles de proteína son suficientes para cubrir las necesidades de lisina (0.17%) para cerdos en crecimiento.

En dietas sorgo-pasta de soya o maíz-pasta de soya el primer AA limitante es lisina seguido por treonina en sorgo y por triptofano en maíz (Russell et al., 1983; Cervantes et al., 1991). El siguiente AA limitante en dietas sorgo-pasta de soya ha sido más difícil de definir, ya que metionina (Hasen et al., 1993) e isoleucina (Cervantes et al., 1991) han sido considerados como el tercer AA limitante. Los requerimientos de AA han derivado de resultados de experimentos, sin embargo existen discrepancias al respecto, atribuidas en parte a la fuente de AA, a la disponibilidad biológica, a la variabilidad de los ingredientes base utilizados en la dieta e incluso al tipo de cerdos que consumen el alimento (NRC, 1998).

2.2.1. Aminoácidos esenciales y no esenciales

Todos los AA presentan un grupo carboxilo (COO) y un grupo amino (NH₂) en la posición del carbono alfa, pero varían en la estructura del grupo radical (la parte del AA que no participa en el enlace peptídico) (Hoseney, 1994). En la naturaleza se encuentran mas de 200 AA, sin embargo, únicamente alrededor de 20 están presentes de manera común en la mayoría de las proteínas (Church et al., 1996). Los AA esenciales o indispensables son aquellos que no se sintetizan en los tejidos del animal en cantidades suficientes para cubrir las necesidades metabólicas por lo que deben ser agregados a la dieta (Cuca et al., 1996). Los AA no esenciales son los que a pesar de ser necesarios desde el punto de vista fisiológico para la síntesis de proteína en el organismo animal, no es necesario adicionarlos en la dieta (Church et al., 1996) porque son

sintetizados a partir de la transferencia de grupos aminos de otros AA que se encuentren en exceso esto ocurre durante el metabolismo de los carbohidratos o porque algunos AA esenciales como la fenilalanina que se puede transformar en tirosina, lo mismo ocurre con metionina en cistina. A este grupo de aminoácidos pertenece alanina, glicina, serina, tirosina, ácido aspartico, ácido glutámico, cistina, prolina e hidroxiprolina (Cuca et al., 1996).

2.2.2. Aminoácidos limitantes y sintéticos

Con la disponibilidad de los AA sintéticos, lisina, metionina, treonina y recientemente triptofano que son los AA esenciales más limitantes, los niveles de inclusión de proteína en las dietas se ha reducido. Estos AA que el cerdo no puede sintetizar deben estar presentes en la dieta para una adecuada formación de proteínas del organismo. En el caso de lisina éste es el primer AA limitante en todos los cereales (Lewis, 2001). Pichardo et al., (2003) en dietas trigo-pasta de soya para cerdos en crecimiento-finalización encontraron que lisina y treonina son AA limitantes y la adición de estos en forma sintética, puede incluso sustituir por completo la inclusión de pasta de soya en la dieta.

Una de las justificaciones para la utilización de AA sintéticos o cristalinos en la alimentación de cerdos, es disminuir la contaminación ambiental por nitrógeno como resultado de la excreción provocada por un desequilibrio en las dietas. El nitrógeno y el fósforo son los elementos más abundantes que se encuentran en las excretas ello causa acumulación excesiva de estos elementos en el suelo en forma de nitratos y fosfatos. Para reducir la excreción de

nitrógeno es indispensable conocer con mayor precisión la digestibilidad de la proteína, el contenido de AA en los ingredientes, los requerimientos de AA de los cerdos, mejorar el balance de AA en las dietas y de igual manera mejorar las prácticas de alimentación (Knabe, 1996).

2.2.3. Fisiología digestiva de las proteínas

Para la utilización de las proteínas de la dieta es necesario que se liberen los AA que las forman, básicamente la digestión de la proteína consiste en la hidrólisis de los enlaces peptídicos. Esta reacción es catalizada por un grupo de enzimas a las que colectivamente se les conoce como enzimas proteolíticas, dicha reacción debe ser completa para dar como resultado AA libres. Lloyd et al. (1982) sugieren que aunque los enlaces entre pares de AA parecen ser idénticos, varían considerablemente en lo que se refiere a su sensibilidad al momento de la hidrólisis enzimática y se ha visto que la ruptura de enlaces es más frecuente que ocurra entre enlaces peptídicos adyacentes que a AA particulares lo cual parece depender de la naturaleza de las cadenas laterales de los AA.

La digestión de las proteínas tiene lugar en estómago y en duodeno, la digestión al igual que la absorción se da de manera rápida. Debido a que las enzimas proteolíticas son proteínas, éstas también se digieren y absorben en su totalidad pero a diferencia de la absorción de las proteínas de la dieta, el proceso se lleva a cabo a lo largo de todo el intestino, con una tendencia al aumento en la autólisis a medida que aumenta la distancia al estómago. La

proteína dietética no solo aumenta la secreción de enzimas proteolíticas sino que también las protege de la autólisis ya que al desnaturalizarse en el estomago pasan a ser el sustrato de las enzimas proteolíticas. Las enzimas proteolíticas son secretadas inicialmente en forma de precursores inactivos llamados zimógenos, al activarse se separa una cadena peptídica que protege al centro activo de la enzima. De forma general las enzimas proteolíticas pueden clasificarse en endopeptidasas, que rompen los enlaces peptídicos del interior de la cadena y exopeptidasas, que actúan sobre los enlaces peptídicos terminales. Las exopeptidasas pueden clasificarse a su vez en carboxipeptidasas y aminopeptidasas dependiendo del sustrato sobre el cual actúen (Lloyd et al., 1982).

2.2.4. Dietas bajas en proteína

La utilización de dietas para la alimentación de cerdos con bajo contenido en proteína se ha estudiado el menos por tres razones: primero por el costo que representa al incluirla en la dieta; segundo por cuestión ambiental lo cual está ligado a la utilización eficiente de la proteína de la dieta por el cerdo para transformarla en carne y tercero por la cantidad de compuestos nitrogenados que contienen los desechos y que son contaminantes potenciales de suelos y agua. Se dice que el comportamiento productivo de los cerdos no se ve afectado cuando se reduce el nivel de proteína en la dieta, siempre que las deficiencias en AA sean cubiertas mediante la adición de AA sintéticos, lo cual no siempre ocurre, ya que la respuesta en cerdos es variable dependiendo del

nivel de reducción en el contenido de proteína en la dieta. Al respecto en diversos estudios realizados por Sharda et al., 1976; Russell et al., 1983; Cervantes y Cromwell, 1992; Ward y Southern, 1992; Cervantes et al., 1992; Tuitoek et al., 1997 encontraron que el nivel de proteína en la dieta puede reducirse de dos a cuatro unidades porcentuales y ser sustituido con lisina o lisina más treonina, sin que se vea afectado el comportamiento productivo de los cerdos.

La mayor parte de los compuestos nitrogenados que no son utilizados para la síntesis de tejido corporal provienen de los AA de la dieta, sin embargo, y dependiendo de los ingredientes utilizados en la dieta, en cerdos hasta 65% del nitrógeno consumido es excretado vía orina y heces (Schutte, 2000) lo cual es causa frecuente de contaminación, es decir, en la medida en que el contenido de AA de la dieta se aproxime al de las necesidades reales del cerdo, la proteína será utilizada con mayor eficiencia y además se disminuirá la descarga de compuestos nitrogenados al ambiente (D' Mello, 1993). Una forma de reducir la descarga de nitrógeno es formulando dietas de acuerdo a edad y estado fisiológico de los cerdos para evitar la incorporación excesiva de proteína en la dieta y considerar el perfil de AA de los ingredientes a utilizar, para la elaboración de dietas con un mejor balance de AA. Al formular para cubrir las necesidades de AA indispensables, existe un exceso de AA dispensables y para prevenir los excesos es necesario minimizar la proteína, cubriendo la demanda de AA esenciales con AA sintéticos. En algunos estudios realizados por Wang y Fuller (1990) y por Gatel y Grosjean (1992) encontraron que la reducción de una

unidad porcentual de proteína en la dieta puede disminuir aproximadamente hasta ocho por ciento la excreción de nitrógeno con un intervalo de 4.4 a 17.5%. Actualmente se cuenta con patrones o perfiles ideales de AA esenciales, con lisina como base para calcular los perfiles exactos de los AA de la dieta. La mayor ventaja de usar el perfil de proteína ideal es que se puede adaptar a diversas situaciones ya que las relaciones ideales se mantienen estables, independientemente de los cambios en el plano nutricional de los aminoácidos o en el contenido total de proteína cruda en la dieta (Baker, 1996). Entonces básicamente el concepto de proteína ideal en dietas para cerdos hace referencia a que en teoría la dieta debe contener el nivel adecuado de cada aminoácido esencial, sin excesos ni deficiencias y un suministro adecuado de nitrógeno no esencial para la síntesis de AA no esenciales (Taylor et al., 1979).

2.3. Utilización de enzimas exógenas en nutrición animal

Las enzimas adicionadas en las dietas de los animales funcionan como biocatalizadores del proceso digestivo, aumentando la digestibilidad de los ingredientes e incrementando la productividad del animal ya que se pueden utilizar ingredientes de menor valor biológico y económico en la dieta, resultando un comportamiento productivo similar (Bedford, 1995). La utilización de enzimas en dietas para cerdos ha aumentado junto con el desarrollo de nuevas tecnologías en la industria de alimentos para ganado (Close, 1996).

Se cree que las enzimas exógenas actúan bajo ciertas condiciones fisiológicas que prevalecen en el tubo digestivo, por lo que las diferencias

anatómicas y fisiológicas entre las especies animales afectan la actividad de las enzimas, como en el caso de las aves y cerdos, ya que la adición de enzimas en dietas para aves ha tenido resultados positivos y constantes; sin embargo en dietas para cerdos los resultados no han sido del todo contundentes y en ocasiones hasta contradictorios, esto se debe a que el alimento pasa directamente al estómago en donde el pH es muy ácido lo cual inactiva de manera irreversible a las enzimas. En el caso particular de las aves debido a que estas están provistas de buche éste les permite la activación de algunas enzimas por efecto de pH (6.0) antes de pasar al proventrículo y la molleja en donde el medio es más ácido que e el buche. (Schutte, 2000).

2.4. Mecanismo de respuesta en la secreción enzimática del páncreas

Las proteasas, lipasas y amilasas aumentan su actividad con el consumo de proteína, grasa y carbohidratos, respectivamente, sin embargo se sabe poco acerca del mecanismo de adaptación específica a través del cual las enzimas pancreáticas responden a la dieta (Temler et al., 1984). Para amilasa y lipasa las evidencias señalan que la adaptación es inducida por la acción directa de los productos de la digestión sobre las células acini, mientras que las proteasas requieren de la presencia de proteínas o péptidos en duodeno, para proporcionar el sustrato sobre el cual actuarán las proteasas pancreáticas (Lavau et al., 1974).

Green y Lyman (1972) presentaron una hipótesis en la cual suponen que la secreción de enzimas pancreáticas en ratas es regulada a través de un

“mecanismo de retroalimentación negativa”, señalan que la presencia de tripsina y quimotripsina en la luz intestinal inhibe la secreción pancreática, posiblemente por la inhibición en la liberación de colecistoquinina (CCK); de manera contraria la inactivación, inhibición o saturación de las proteasas resulta en liberación de CCK y como consecuencia un aumento en la secreción pancreática, concluyeron que tanto la proteína intacta como el factor inhibidor de tripsina de manera invertida provocan la inhibición en la retroalimentación causada por las proteasas pancreáticas en la luz intestinal, lo cual fue confirmado por Green y Miyasaka (1983) al concluir que la proteína hidrolizada es un estimulante débil de la secreción pancreática, fortaleciendo la hipótesis de que la proteína intacta y el factor inhibidor de tripsina estimulan la secreción pancreática a través de un mecanismo común. En estudios realizados por Liddle et al. (1986) observaron que las proteínas son el principal estimulante de la liberación de CCK y que tal efecto está relacionado con su capacidad para inhibir tripsina *in vitro*.

Temler et al. (1984) presentan resultados similares que apoyan la hipótesis propuesta por Green y Lyman (1972), sin embargo señalan que la liberación de los factores hormonales (CCK-pancreosamina) se induce por la acción directa de pequeños péptidos productos de la digestión de la proteína dietética en células endocrinas del tejido intestinal y por lo tanto para la secreción de las enzimas tripsina y quimotripsina no se requiere la presencia de sustrato en el intestino. Cuando alimentaron ratas con dietas conteniendo inhibidor de tripsina soya se produjo un aumento considerable de las proteasas pancreáticas comparado con el producido por proteínas o péptidos y supusieron

que la secreción de proteasas pancreáticas es medida por dos mecanismos diferentes, concluyendo que el “mecanismo de retroalimentación negativa” parece ser mas característico para el inhibidor de tripsina de soya.

Por su parte Iwai et al. (1987) y Fushiki et al. (1989) identificaron un péptido en el jugo pancreático denominado “péptido monitor”, el cual presenta sensibilidad a tripsina y posee actividad liberadora de CCK en el intestino de ratas. Estos investigadores propusieron la hipótesis de que el péptido bioactivo es secretado en el páncreas junto con las proenzimas, sin embargo es fácilmente hidrolizado durante la digestión. La digestibilidad *in vitro* de una proteína dietética como sustrato depende de su afinidad por las proteasas, de este modo, una proteína fácilmente digerible tiene alta afinidad por las proteasas que se encuentran en la luz intestinal, por lo tanto la mayor parte del “péptido monitor” secretado puede permanecer intacto a la digestión advirtiendo su inactivación en la luz intestinal. Así, el péptido intacto tiene alta capacidad de ser un potente liberador de CCK, la cual controla la secreción de enzimas pancreáticas en respuesta a la proteína consumida. Este péptido sería entonces el responsable de la regulación del “mecanismo de retroalimentación” propuesto por Green y Lyman (1972). En estudios realizados por Shimizu et al., (1994) sugieren que la secreción pancreática estimulada por oligopéptidos o aminoácidos es medida por secretina y CCK, pero principalmente por secretina.

2.5. Actividad de enzimas pancreáticas en el cerdo

El tamaño y la secreción exocrina del páncreas responden al tipo de dieta ofrecida lo cual obedece a una estricta regulación hormonal. Temler et al., (1984) mencionan que el peso del páncreas y la actividad de tripsina y quimotripsina en la digesta intestinal en ratas se vio aumentada cuando el nivel de proteína en la dieta fue aumentado de 10 a 30%. En cerdos el flujo de la secreción de jugo pancreático está influenciado por el tipo de dieta pero la actividad de tripsina y quimotripsina permanece constante (Partridge et al., 1982; Zebrowska et al., 1983).

Hibbard et al., (1992) encontraron que la actividad de quimotripsina del jugo pancreático aumentó observando un incremento en la actividad de lipasa sin que se incrementara la secreción del volumen de jugo pancreático. Estos mismos investigadores encontraron que en cerdos alimentados con una dieta que contenía 30% de PC y también en dietas altas en grasas y almidón la secreción total de amilasa y el volumen secretado aumentaron. Mientras que Pöhland et al. (1993) encontraron que al alimentar cerdos con cuatro niveles de proteína, no hubo efecto ($P > 0.05$) del nivel de proteína ni del tipo de proteína ($P > 0.10$) en la actividad de las enzimas evaluadas a pesar de la diferencia (alrededor de 23%) entre las variables. Por otra parte Hibbard et al., (1992) al evaluar dietas con niveles de PC de 14 y 26% en dietas maíz-pasta de soya para cerdos en crecimiento, observaron que los cerdos que consumieron la dieta con 26% de PC mostraron mayor actividad de quimotripsina pancreática total y

mayor relación entre tripsina:ADN y quimotripsina:ADN y un mayor peso del páncreas con respecto a los cerdos que recibieron la dieta con 14% de PC.

2.6. Actividad de la fitasa

Las fitasas se encuentran ampliamente distribuidas en microorganismos, plantas y animales. Fitasas de tipo endógeno se han encontrado en el tubo digestivo de cerdos, aves y otras especies no rumiantes aunque su actividad es casi nula (Pointillart, 1991; Yi y Kornegay, 1996). En el caso particular del cerdo, la actividad fitásica intestinal es nula cuando se compara con la de la fosfatasa alcalina (fitasa), incluso cuando el consumo de fósforo sea muy bajo. (Pointillart, 1994).

2.6.1. Composición química del ácido fitico

El ácido fitico (ácido exafosfórico de mio-inositol, $C_6H_{12}O_{24}P_6$) químicamente se refiere a 1,2,3,4,5, 6-hexa fosfato dihidrogeno de mioinositol (Vincent, 1992), es un factor antinutricional que se encuentra en materiales vegetativos como las semillas que se utilizan para la alimentación animal y el consumo humano (Kies, 2005). El P fitico constituye una buena parte del P total de los granos de cereales y semillas de oleaginosas, representa aproximadamente de 60 a 80% del P total (Liao et al., 2002). La concentración de P fítico depende principalmente de la parte de la planta de donde procede, ya que se acumula en su mayoría en las semillas. La molécula del ácido fítico posee un alto contenido de P (28.2%) y sus 6 radicales fosfóricos muestran una

fuerte capacidad para quelar varios cationes, un mol de ácido fítico puede quelar de 3 a 6 moles de calcio formando fitatos insolubles a pH intestinal (Yi y Kornegay, 1996; Pointillart, 1999). Esta misma capacidad hace que el ácido fítico forme también una amplia variedad de sales insolubles con cationes divalentes y trivalentes a pH neutro (Zn, Cu, Co, Mn, Fe y Mg) impidiendo que estos minerales puedan ser absorbidos a nivel intestinal. (Cheryan, 1980; Kies, 2005). Es un componente esencial de los granos de cereales y de leguminosas, representa una reserva de fósforo, otros minerales y glúcidos que son utilizados por las semillas durante el proceso de germinación. Al momento de la germinación el ácido fítico es hidrolizado por una enzima fosfatasa ácida llamada fitasa, para liberar el ortofosfato y el inositol que se encuentran en los granos (Pointillart, 1991).

2.6.2. Utilización de fitasa en dietas para cerdos

Las fosfatasas son un conjunto diferenciado de enzimas que se clasifican en fosfatasas alcalinas, fosfatasas ácidas de alto y bajo peso molecular y complejo fosfatasas-proteína (Vincent et al., 1992). Estas enzimas difieren en sus pH óptimos, requerimientos de iones metálicos, especificidad por los sustratos y, posiblemente, por sus mecanismos de acción. Las fitasas catalizan la hidrólisis de los fosfatos monoesterificados del ácido fítico dando lugar de forma progresiva a la formación de inositol-5 fosfato, inositol-4 fosfato, inositol-3 fosfato, inositol-2 fosfato e inositol-1 fosfato. En general, las fitasas fúngicas y bacterianas liberan cinco de los seis fosfatos y sólo raras veces es

posible encontrar liberado inositol-1 fosfato y mioinositol libre (Wyss et al., 1999). Las fitasas de origen vegetal se conocen desde hace mucho tiempo, pertenecen al tipo 6-fitasa y se caracterizan por hidrolizar al ácido fítico comenzando por el grupo ortofosfato situado en la posición 6 de la molécula, dando lugar como primer producto intermediario al D-mioinositol 1, 2, 3, 4, 5 pentakisfosfato más una molécula de ortofosfato. Estas fitasas hidrolizan completamente al ácido fítico. El pH óptimo de las fitasas vegetales oscila entre 5.0 y 5.6; medios muy ácidos o alcalinos las inactivan de forma irreversible. Su temperatura óptima se encuentra entre 45 a 60°C, (Wodzinski y Ullah, 1996). Las fitasas vegetales suelen ser menos efectivas que las fúngicas. Esta menor efectividad se le ha atribuido al estrecho rango de pH y al mayor grado de inactivación de las fitasas vegetales en el estómago. No obstante, se ha observado un efecto aditivo entre ambas fitasas, y una óptima incorporación de ingredientes vegetales con alta actividad fitásica puede incluso eliminar por completo la adición de fosfatos inorgánicos en dietas para cerdos (Kornegay, 1996; Kornegay y Qian 1996).

De todos los organismos estudiados (plantas, bacterias y hongos), el *Aspergillus niger* es el que produce la fitasa extracelular más activa. Este hongo produce dos fitasas (A y B) y una fosfatasa ácida de pH 6,0. La fitasa tipo A actúa dentro de un rango de pH de 2.5-5.0 y a una temperatura óptima de 58°C. La fitasa de tipo B un pH óptimo de 2.5 y una temperatura óptima de 63°C (Wodzinski y Ullah, 1996). En la actualidad hay, al menos, cuatro fitasas comerciales disponibles, tres de ellas obtenidas por fermentación de un *Aspergillus* genéticamente modificado (Natuphos[®], Novo phytase[®] y Finase[®]), y

otra por extracción del medio de cultivo de un *Aspergillus* no modificado genéticamente (Alltech phytase[®]). La utilización de las fitasas en la industria de los alimentos para animales se ha visto favorecida por la mejora constante en la utilización de ingredientes como minerales, aminoácidos y otros aditivos y por la generación de nuevas tecnologías que han permitido la obtención de la enzima a escala industrial, esto ha permitido una disminución en el costo de producción de la enzima.

2.6.3. Acción de fitasa sobre la disponibilidad de nutrientes en la dieta

a). Fósforo

Kornegay y Qian (1996) a partir de 52 experimentos con cerdos observaron una respuesta no lineal a la adición de fitasa sobre la digestibilidad de fósforo, siendo la magnitud de la respuesta por unidad de fitasa mucho más acentuada con niveles bajos de esta enzima, de esto se deduce que la adición de 500 unidades de fitasa/kg de alimento (500 FTU/kg) produce una reducción de 33.2% en la excreción de P, permitiendo disminuir el nivel de éste en la dieta en 0,1 unidades porcentuales. La adición de 1000 FTU/kg de alimento, produce una mejora en la digestibilidad de P de hasta 28%, lo que equivale aproximadamente a 1g de P digestible por kg de alimento. Las especificaciones para la utilización de la enzima fitasa en dietas comerciales para cerdos recomiendan 500 FTU/kg de alimento con una equivalencia de 0.8 g de P digestible/kg de alimento.

b). Calcio

La acción hidrolítica de la fitasa sobre los fitatos en el estómago del cerdo, no sólo aumenta la digestibilidad del fósforo, además, indirectamente eleva la del calcio (Ca). Kornegay (1996) estimó, una equivalencia de 0.73g de Ca liberado cuando a la dieta se le adicionan 500 FTU/kg de alimento. Sin embargo, se ha demostrado que el exceso de Ca en la dieta no solo precipita de manera progresiva a la fitasa para formar compuestos insolubles con Ca, también reduce la susceptibilidad del fitato para la hidrólisis enzimática, por la competencia por los sitios activos de la fitasa (Liao et al., 2002). Por ello es importante tener el cuidado de mantener la proporción adecuada en la dieta de Ca-P.

c). Proteína y aminoácidos

En estudios *in vitro* se ha demostrado que las fitasas tienen la capacidad de formar quelatos con AA libres, especialmente lisina. La incubación de lisina en HCl con salvado de arroz (rico en fitatos), muestra que un 20% de esta lisina queda ligada al fitato. La adición de fitasa al medio de incubación libero el 50% de la lisina quelada (Traylor et al., 2001). En estudios *in vivo*, Jongbloed y Lenis (1998) observaron que la adición de fitasa mejora la digestibilidad aparente de la PC y AA. Kornegay (2001), en una revisión de la literatura que abarca 17 experimentos, señalan que el empleo 1000 FTU kg dieta⁻¹ produce 0.85% en la digestibilidad total aparente de la proteína.

Kornegay y Quian (1996) estimaron que, reduciendo 1.0% la PC en la dieta y con un valor de excreción (heces y orina) de nitrógeno (N) del 40% del N consumido, la excreción de éste disminuyó 7.1% cuando se adicionaron 500 FTU kg dieta⁻¹. Liao et al., (2005) en los resultados que se presentan en el **Cuadro 2** encontraron que la adición de fitasa en dietas trigo-pasta de soya-pasta de canola, para cerdos recién destetados, mejoro consistentemente la digestibilidad ileal aparente (DIA) de arginina, histidina fenilalanina, treonina y valina, hubo una tendencia a incrementarse la DIA de la PC, leucina y licina, cuando las dietas adicionadas con 500 y 1000 FTU/kg de alimento se compararon con la dieta testigo, el efecto no fue significativo cuando las dietas adicionadas con fitasa se compararon entre si.

Cuadro 2. Efecto de la adición de fitasa en la digestibilidad ileal aparente (%) de proteína cruda y aminoácidos en dietas trigo-pasta de soya-pasta de canola en cerdos recién destetados.

	Adición de fitasa FTU kg dieta ⁻¹			EEM	Contrastes	
	0	500	1000		C1	C2
PC	76.0	76.2	76.8	1.38	0.660	0.646
AA esenciales						
Arginina	86.4	86.8	86.6	0.86	0.730	0.893
Histidina	83.6	83.2	83.5	1.31	0.858	0.836
Isoleucina	79.3	80.5	80.6	1.34	0.334	0.922
Leucina	78.8	76.1	78.8	2.22	0.847	0.415
Lisina	75.8	75.5	76.4	1.68	0.898	0.645
Fenilalanina	82.1	83.1	83.5	1.22	0.354	0.763
Treonina	73.1	73.1	73.3	1.12	0.981	0.915
Valina	75.7	76.5	76.7	1.56	0.512	0.887
AA no esenciales						
Alanita	76.4	77.1	77.5	1.57	0.477	0.755
Acido Aspártico	76.8	77.6	77.5	1.46	0.523	0.941
Acido Glutámico	86.6	84.0	84.2	1.27	0.643	0.896
Glicina	73.1	72.5	73.0	1.12	0.780	0.713
Serina	77.0	77.4	77.7	1.31	0.628	0.843
Tirosina	82.0	82.9	83.6	1.27	0.349	0.656

Valores de los contrastes: C1 = dieta basal vs. dieta adicionada con fitasa; C2 = 500 vs. 1000 FTU kg dieta⁻¹; n=6. (Liao, et al., 2005).

2.6.4. Factores que influyen en la eficacia nutricional de la fitasa

a). Características anatómicas del tubo digestivo del cerdo

Las diferencias anatómicas de los cerdos con respecto a las aves influyen también en la hidrólisis y absorción del fósforo fítico, así como en la actividad de las fitasas. El mayor tiempo de permanencia del alimento en el estómago en el caso del cerdo y el bajo pH permiten una mejor eficiencia de la fitasa, por lo tanto, una mayor digestibilidad del fósforo fítico. Se ha comprobado que 40 a 50% de la actividad de las fitasas que se adicionan a dietas para cerdos se observa en el estómago, mientras que en duodeno sólo se encuentra de 16 a 30% (Yi y Kornegay, 1996).

a). Relación Calcio Fósforo (Ca:P)

La respuesta a un nivel dado de fitasa exógena puede ser afectada por la cantidad de calcio (Ca) y/o la relación Ca:P, el nivel de fósforo y el nivel de fitatos en la dieta. Una alta relación Ca-fitato en la dieta puede dar lugar a la formación de complejos Ca-fitatos muy insolubles en el medio intestinal. Se cree que un exceso de calcio puede reducir la actividad enzimática al competir con las fitasas por su lugar de acción (Liao et al., 2002). En estudios con cerdos, se ha observado que se tiene una mayor respuesta a la adición de fitasas en la dieta por la mejor digestión del P fítico, cuando la relación Ca total:P total se mantiene entre 1:1 y 1.1:1, niveles más altos de calcio reducen la absorción de fósforo y la digestión de los fitatos por la fitasa (Yi et al., 1996).

Cuadro 3. Digestibilidad ileal aparente de proteína cruda, aminoácidos, Ca y P, en dietas experimentales para cerdos en crecimiento ^a.

Dieta	1	2	3	4	5	6	7	
Fuente de PC	SBM	SBM	SBM	SBM	SBM	SPC	CAS	
Fitasa, (Unidades/kg)	0	500	1000	1500	0	0	0	SE
					%			
AA esenciales								
Arginina ^b	93.2	93.7	93.1	93.1	92.8	92.3	81.6	0.53
Histidina ^b	89.4	89.8	86.6	88.9	88.2	87.8	90.9	0.51
Isoleucina ^b	87.9	88.8	87.6	87.9	88.0	87.4	90.3	0.49
Leucina ^b	86.4	87.6	86.1	86.6	86.9	86.1	90.0	0.55
Lisina ^{bc}	89.9	90.7	88.8	88.7	89.6	88.8	92.4	0.59
Metionina ^{bd}	90.2	90.6	89.0	89.4	89.4	87.6	95.2	0.45
Fenilalanina ^{bc}	82.5	83.4	80.9	82.2	82.4	82.0	79.1	0.83
Treonina ^{be}	80.5	81.3	78.7	79.8	81.8	79.2	76.0	0.91
Triptofano ^{bf}	89.3	90.9	87.7	88.9	89.7	89.1	85.8	0.76
Valina ^b	85.8	86.6	85.1	85.5	86.5	85.3	89.7	0.60
AA no esenciales								
Alanina ^b	84.0	84.6	82.4	83.4	84.8	83.2	75.3	0.95
Acido aspartico ^{bd}	87.4	88.1	86.4	87.1	86.9	83.5	84.4	0.63
Cistina ^b	82.2	82.7	79.0	80.7	82.4	78.7	23.0	2.19
Acido Glutámico ^{bb}	91.5	92.1	90.5	91.3	90.8	89.0	93.3	0.54
Glicina ^b	77.5	79.4	75.7	76.7	81.1	76.3	11.9	3.70
Prolina ^b	83.8	84.9	82.7	84.1	84.9	82.1	70.4	1.72
Serina ^c	86.0	87.0	85.3	86.0	85.8	84.6	85.1	0.59
Tirosina ^c	85.6	86.8	84.8	85.7	86.5	86.0	86.8	0.62
Proteína cruda ^{bc}	82.5	83.4	80.9	82.2	82.4	82.0	79.0	0.83
Minerales								
Ca ^b	63.5	67.5	68.9	69.2	57.7	57.2	30.2	3.09
P ^{bg}	49.8	64.3	66.9	69.8	53.8	54.8	74.7	1.66

^aMedias basadas en 14 observaciones por tratamiento; SBM = pasta de soya; SPC = concentrado de proteína de soya; CAS = caseína; SE = error estandar.

^bDieta 7 vs medias de otros (P < 0.01).

^cEfecto cúbico del nivel de fitasa (P < 0.05).

^dDieta 5 vs dieta 6 (P < 0.01).

^eDieta 5 vs dieta 6 (P < 0.05).

^fEfecto cúbico del nivel de fitasa (P < 0.01).

^gEfecto cuadrático del nivel de fitasa (P < 0.01).

Traylor et al., (2001) encontraron que la digestibilidad ileal aparente de PC y AA, en dietas experimentales para cerdos (**Cuadro 3.**) presento una mejora pero no significativa entre la dieta uno y dos, sin embargo dicho incremento no se mantuvo en las dietas donde se adicionaron los niveles mas

altos de fitasa (dietas tres y cuatro). La digestibilidad ileal aparente de P respondió en forma significativa a los diferentes niveles de fitasa adicionada, resultando un incremento cuadrático ($P < 0.01$) donde el mejor incremento se obtuvo en la dieta dos

b). Vitamina D

La vitamina D mejora la digestibilidad del fósforo en dietas bajas y altas en fosfatos, existiendo una dosis-respuesta lineal de cero a 3000 UI de vitamina D₃/kg de alimento, como la vitamina D no altera la actividad de la fitasa en la mucosa intestinal en los cerdos, es probable que actúe indirectamente aumentando la absorción de Ca. Esto limita la formación de fosfato de calcio (insoluble), disminuyendo así la cantidad de fósforo no disponible en duodeno (Pointillart, 1999).

III. MATERIALES Y METODOS

3.1. Localización

La fase experimental de la presente investigación se realizó en las instalaciones del metabólico de crecimiento-finalización de cerdos del Instituto de Ciencias Agrícolas de la Universidad Autónoma de Baja California, en el Ejido Nuevo León del municipio de Mexicali. Se localiza a 32°39' longitud norte y 115°28' latitud oeste, a una altura de dos metros sobre el nivel medio del mar. El clima es seco cálido con lluvias en invierno, con una temperatura media anual de 22°C, siendo enero el mes más frío con una temperatura media de 13°C y julio el mes más cálido con temperatura máxima promedio de 45°C, mínima de 20°C y media general de 33°C, la oscilación térmica media anual es de 20°C. La precipitación pluvial media anual va de 32.3 a 75.9 mm. En general el clima se considera extremoso de tipo desértico (INEGI, 2001).

3.2. Animales y procedimientos

El experimento se realizó con ocho cerdos híbridos (Yorkshire-Landrace-Hamshire) castrados con un peso promedio 38.3 ± 2.8 kg al iniciar la prueba de digestibilidad. Cada cerdo fue adaptado quirúrgicamente con dos cánulas tipo "T"; una fue colocada en duodeno proximal y otra en íleon terminal. Previo a la intervención quirúrgica los cerdos se sometieron a un periodo de ayuno de 24 h y sin acceso a agua durante las últimas 12 h del ayuno. Las cirugías y los procedimientos quirúrgicos se realizaron siguiendo los procedimientos y lineamientos que establece el Canadian Council on Animal

Care (CCAC, 1993). Previa aplicación de un tranquilizante y un anestésico, cada cerdo fue colocado de manera lateral exponiendo el costado derecho (Cervantes et al., 2000), después de que el animal fue afeitado de el costado, se procedió a realizar el abordaje quirúrgico en la zona del músculo *oblicuo externo*, a la altura de la segunda vértebra lumbar sin afectar el *longissimus lumborum*, se realizó una incisión vertical en dirección ventral (Frandsen et al., 1995) de ocho cm aproximadamente, después de cortar los tejidos cutáneo y adiposo, fueron separados los músculos *oblicuo externo*, *oblicuo interno* y *transverso del abdomen*, se escindió peritoneo exponiendo el intestino, se ubico duodeno, y a 10 cm aproximadamente posterior a la inserción del conducto pancreático, se realizó un ojal suturando la pared duodenal externa, se realizo un corte longitudinal de dos cm en el área interna del ojal para introducir la cánula en la luz intestinal, se tenso la sutura que formaba el ojal para sujetar y fijar la cánula al intestino, la parte tubular de la cánula se exteriorizo a un costado de la incisión quirúrgica en dirección caudal; la cánula ileal fue colocada y exteriorizada de manera similar a la duodenal con la diferencia de que fue asentada aproximadamente 10 cm anterior a la válvula íleo-cecal. Una vez exteriorizadas ambas cánulas cada una fue sujeta a la pared abdominal externa mediante una “contra” del mismo material de la cánula y al final se procedió a la sutura de la incisión por capas (peritoneal, muscular y piel). Al final de las cirugías los cerdos fueron alojados en corrales individuales elevados con piso de malla de acero y bebedero automático; el periodo de recuperación postoperatorio fue de 10 días durante dicho periodo la alimentación fue a base sorgo-pasta de soya

con 15% de proteína cruda y con libre acceso a agua. Una vez que los animales se recuperaron de la cirugía fueron distribuidos al azar en cuatro tratamientos T1=dieta base; T2=dieta base+fitasa; T3=dieta base+pancreatina; T4=dieta base+fitasa+pancreatina, la composición de las dietas y la asignación de acuerdo a los tratamientos se indica en el **Cuadro 4**.

Inicialmente el experimento fue planteado para ser analizado mediante un diseño experimental de cuadro latino repetido 4X4, cada tratamiento se agrupo en repeticiones de dos maneras: las hileras para los cuatro periodos de evaluación de los cuatro tratamientos y las columnas para las cuatro unidades experimentales (cerdos) con su repetición correspondiente, se agruparon así para eliminar los errores las diferencias entre periodos y entre las unidades experimentales.

Cuadro 4. Composición (%) y asignación de las dietas experimentales por tratamientos

Ingredientes	Tratamientos			
	T1	T2	T3	T4
Sorgo	92.03	92.03	92.03	92.03
Fitasa ^a	----	1000	----	1000
Pancreatina ^b	----	----	591	591
Pasta de soya	5.00	5.00	5.00	5.00
Carbonato de Ca	0.93	0.93	0.93	0.93
Fosfato dicálcico	1.19	1.19	1.19	1.19
Sal iodada	0.35	0.35	0.35	0.35
Premezcla de vitaminas y minerales ^c	0.20	0.20	0.20	0.20
Antibiótico ^d	0.10	0.10	0.10	0.10
Oxido crómico	0.20	0.20	0.20	0.20
Total	100	100	100	100

^a Proporcionó 1000 unidades fitasa (FTU) por kg de dieta.

^b Proporcionó 591 mg de pancreatina infundida en duodeno por cada kg de dieta consumida.

^c Proporcionó por kilogramo de dieta: Vitamina A, 4800 UI; Vitamina D₃, 1600 UI; Vitamina E, 4.8 UI; Vitamina K₃ 1.6 mg; Riboflavina, 4 mg; D-ácido pantoténico, 7.2 mg; Niacina, 16 mg; Vitamina B₁₂, 12.8 µg; Zn, 64 mg; Fe, 64 mg; Cu, 4 mg; Mn, 4 mg; I, 0.36 mg; Se, 0.13 mg.

^d Proporcionó 200 mg de Clorhidrato de Oxitetraciclina-HCl por kg de dieta.

Cada cerdo recibió una vez cada uno de los tratamientos, la dieta experimental fue a base de sorgo-pasta de soya, sin adicionar aminoácidos sintéticos la dieta contenía 0.2% de óxido crómico como marcador interno para determinar el grado de digestibilidad de la dieta. La misma dieta fue utilizada para los cuatro tratamientos pero con diferente enzima (fitasa y pancreatina) para cada tratamiento y con diferente forma de administración como se menciona en el **Cuadro 4**.

Los cerdos se alimentaron dos veces al día (07:00 y 19:00 h) en cantidades iguales en cada ración durante los cuatro periodos del experimento. Cada animal recibió 700 g/día de dieta, durante los cuatro periodos. Antes de iniciar con el primer periodo los animales fueron adaptados durante el periodo de recuperación para que consumieran su ración en 20 minutos o menos. El agua estuvo disponible *ad libitum* durante todo el experimento. Cada periodo del experimento tuvo una duración de nueve días de los cuales los primeros siete fueron de adaptación y los dos últimos de toma de muestras de digesta ileal.

Las enzimas que se utilizaron en el experimento (**Cuadro 5**.) fueron una Fitasa (Natuphos® 5000G) que se adicionó a la dieta a razón de 1000 FTU kg dieta⁻¹ respectivamente y Pancreatina que se infundió a nivel duodenal aportando 591 mg de Pancreatina por cada kg de dieta consumido. Para la infusión la Pancreatina primero fue disuelta en 120ml de agua corriente a temperatura corporal y después se infundió en duodeno a los 15, 30, 45, 60, 90 y 120 minutos *pos-prandial* a razón de 20ml en cada infusión, durante los nueve

días de duración que correspondieron a cada periodo como se indica en el

Cuadro 4.

Cuadro 5. Descripción de las enzimas ^a utilizadas en el experimento.

Especificaciones	Pancreatina	Fitasa
Comerciales		
Fabricante	Sigma-Aldrich USA	DSM Food Specialties
Nombre comercial	Pancreatin	Natuphos [®] 5000 G
Origen	Páncreas de cerdo	<i>Aspergillus Níger</i>
Fisicoquímicas		
Sustrato	Péptidos, AA, ácidos grasos y almidones	Fosfatos monoesterificados del ácido fítico
pH óptimo	7.5 a 9.0	5.5
Temperatura óptima	37 a 40 °C	37 °C
Actividad enzimática	180 000 UHT/g ^b	1µMol de otofosfato/min por 1 FTU ^c
Enzimas activas que contiene el producto utilizado	Amilasa, tripsina, lipasa, ribonucleasa y proteasas	mio-inositolhexafosfato fosfohidrolasa.

^a Datos obtenidos de los manuales técnicos y comerciales de los fabricantes.

^b Unidades de hemoglobina por gramo de enzima.

^c 1 FTU se define como la cantidad de enzima necesaria para liberar 1 µMol de ortofosfato por minuto en una solución 5.1 mM de fitato de sodio a pH de 5.5 y a 37°C de temperatura.

Las muestras de digesta se tomaron durante 12 h continuas (de 07:00 a 19:00 h), se colectaron en bolsas de plástico que fueron sujetadas de la parte externa de la cánula colocada en ileon terminal, se retiraron con intervalos de tiempo no mayor a 10 minutos o antes cuando el flujo de la digesta era más rápido. Inmediatamente después de colectadas las muestras se congelaron a menos 4°C para evitar fermentación, hasta que posteriormente, las muestras se prepararon para su análisis en laboratorio. Las muestras se secaron en frío por sublimación (a -40°C y 113×10^{-3} milibares de presión) para evitar dañar la estructura química de los aminoácidos presentes en las muestras, después se molieron para determinar materia seca, cenizas (AOAC, 1984) y oxido crómico

(Hill y Anderson, 1958). El contenido de aminoácidos en las muestras de digesta ileal y de la dieta (**Cuadro 6.**) se determinó por HPLC (High Performance Liquid Chromatography) en la Experiment Station Chemical Laboratories, St. Louis MO, USA.

Cuadro 6. Composición analizada de aminoácidos de la dieta base (% materia seca)^a que se utilizó para los cuatro tratamientos.

Aminoácidos	Dieta base	NRC, 1998
AA esenciales		
Arginina	0.65	0.25
Histidina	0.33	0.22
Isoleucina	0.59	0.46
Leucina	1.64	0.60
Lisina	0.46	0.75
Metionina	0.19	0.41
Fenilalanina	0.71	0.66 ^b
Treonina	0.43	0.41 ^c
Valina	0.70	0.48
AA no esenciales		
Acido aspártico	1.04	
Acido glutámico	2.69	
Serina	0.56	
Prolina	1.00	
Glicina	0.49	
Alanina	1.08	
Tirosina	0.50	
Proteína Cruda	13.06	16.5 ^d

^a El análisis se realizó por HPLC (High Performance Liquid Chromatography) en la Experiment Station Chemical Laboratories, St. Louis MO, USA.

^b Requerimiento para cubrir fenilalanina+tirosina.

^c Requerimiento para cubrir metionina+cistina.

^d Según Cervantes y Cromwell (1992).

La concentración de óxido crómico en las muestras de alimento y de digesta ileal se utilizó para obtener la digestibilidad ileal aparente (DIA) de los aminoácidos aplicando la ecuación propuesta por Asche et al. (1989): $D_D = [1 - (M_A \times N_D) / (M_D \times N_A)] \times 100$. Donde: D_D = Digestibilidad ileal aparente de un

nutriente (%); M_A = Concentración del marcador en la dieta (%); N_D = Concentración de un nutriente en la digesta (%); M_D = Concentración de un marcador en la digesta (%); N_A = Concentración de un nutriente en la digesta (%).

3.3. Análisis estadístico

Inicialmente el experimento fue planteado para ser analizado mediante un diseño experimental cuadro latino repetido 4X4, sin embargo debido a que al iniciar el primer periodo del experimento se perdió una unidad experimental se optó por realizar el análisis estadístico de las variables de respuesta de este experimento utilizando un diseño en Bloques Completos al Azar, representado por el siguiente modelo:

$$Y_{ij} = \mu + t_i + \beta_j + \xi_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} = Variable de respuesta [digestibilidad ileal aparente de AA (%), absorción de AA (g día⁻¹), actividad de fitasa (FTU kg dieta⁻¹), actividad de pancreatina (U mg⁻¹)] en el i -ésimo tratamiento, de la j -ésima repetición.

μ = Medía general, común a todas las unidades experimentales antes de la aplicación de los tratamientos.

t_i = Efecto de la i -ésima dieta; $i=1,2, \dots, 4$.

β_j = Efecto del j -ésimo cerdo; $j=1,2, \dots, 7$.

ξ_{ij} = Error experimental aleatorio para cada observación (ij).

La utilización de este modelo supone una distribución normal e independiente de los errores con media cero y varianza σ^2 . De acuerdo a los efectos de tratamientos y bloques el modelo para este experimento es al azar y las conclusiones se aplicaran a toda la población (Padron, 1996). En este caso las cuatro dietas corresponden a los Tratamientos, y las repeticiones a los Bloques de esta manera todos los Tratamientos están incluidos en cada uno de los Bloques del experimento. Los Periodos no fueron considerados como Bloque debido a que en este tipo de Diseño para que el bloqueo sea eficiente es necesario que las unidades experimentales dentro de un Bloque sean tan uniformes como sea posible de modo que las diferencias observadas se deban en gran medida a los Tratamientos y no a los Bloques (Steel y Torrie, 1960) por esta razón se tomaron las repeticiones para conformar los Bloques (Herrera y Barreras, 2000).

Cuadro 7. Representación algebraica del análisis de varianza para el Diseño en Bloques Completos al Azar que se aplico en el experimento.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	E(CM)
Tratamientos	$t-1 = 3$	$\sum_{i=1}^t \frac{Y_{i.}^2}{r} - FC$	$\sigma_e^2 + t\sigma_\beta^2$
Repeticiones	$r-1 = 6$	$\sum_{j=1}^r \frac{Y_{.j}^2}{t} - FC$	$\sigma_e^2 + r\sigma_t^2$
Error	$(t-1)(r-1) = 18$	SC Tot – SC Trat – SC Rep	σ_e^2
Total	$tr-1 = 27$	$\sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^r Y_{ij}^2 - FC$	

Padrón, 1996.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Digestibilidad ileal aparente de aminoácidos

Los resultados de digestibilidad ileal aparente de aminoácidos se presentan en el **Cuadro 8**. La adición de 1000 unidades fitasa por kg de dieta ni la infusión duodenal de pancreatina causaron efecto ($P > 0.10$) en la digestibilidad ileal aparente de ninguno de los aminoácidos esenciales o no esenciales analizados. De los aminoácidos esenciales, arginina, histidina, isoleucina, Isoleucina, leucina y fenilalanina presentaron mayor digestibilidad incluso que la proteína total sin embargo en el caso de lisina, metionina, treonina y valina fueron los aminoácidos esenciales que presentaron menor porcentaje de digestibilidad. De los aminoácidos no esenciales serina, prolina y glicina fueron los que resultaron con menor porcentaje de digestibilidad mientras que ácido glutámico, ácido aspártico, alanina y tirosina fueron los que presentaron mayor digestibilidad dentro de cada tratamiento y entre tratamientos. En promedio, la digestibilidad ileal aparente de los aminoácidos esenciales fue 3.18 unidades porcentuales mayor con respecto a la de los no esenciales lo cual pudo ser a que la dieta no contenía el nivel de aminoácidos para cubrir los requerimientos de cerdos en crecimiento (NRC, 1998) ya que como se observa en el **Cuadro 4** la dieta base no se adiciono con aminoácidos sintéticos y además ésta no cubrió cien por ciento los requerimientos de aminoácidos para cerdos en crecimiento.

Aunque la dieta base no cubrió cien por ciento los requerimientos de proteína sugeridos por el NRC (1998) se esperaba que esto no afecte el

comportamiento productivo del cerdo. Tal como lo demuestran estudios realizados por Sharda et al., 1976; Russell et al., 1983; Cervantes y Cromwell, 1992; Ward y Southern, 1992; Cervantes et al., 1992; Tuitoeck et al., 1997 en donde encontraron que el nivel de proteína en la dieta puede reducirse de dos a cuatro unidades porcentuales, sin embargo en dichos estudios las dietas fueron adicionadas con lisina o lisina más treonina que son de los primeros aminoácidos limitantes en granos.

Cuadro 8. Efecto de la infusión duodenal de pancreatina en la digestibilidad ileal aparente ^a de aminoácidos (%) en dietas sorgo-pasta de soya adicionadas con fitasa para cerdos en crecimiento.

Determinación	Tratamientos				P	EE
	T1 ^b	T2 ^c	T3 ^d	T4 ^e		
Proteína Cruda	71.01	70.61	69.61	70.87	0.24	3.29
AA esenciales						
Arginina	77.83	78.10	77.31	79.00	0.02	2.42
Histidina	72.06	71.39	69.93	72.18	0.20	3.64
Isoleucina	72.72	72.08	70.31	71.11	0.12	3.16
Leucina	77.51	76.84	75.31	76.91	0.22	3.63
Lisina	63.44	63.98	61.76	60.65	0.36	4.14
Metionina	69.55	68.15	65.95	67.58	0.08	4.01
Fenilalanina	75.72	75.03	73.45	74.67	0.13	3.16
Treonina	56.97	55.18	54.93	57.73	0.11	3.91
Valina	68.28	67.46	66.30	67.41	0.14	3.16
AA no esenciales						
Acido aspártico	67.87	67.27	67.05	67.72	0.28	3.15
Acido glutámico	77.34	77.05	75.91	77.24	0.16	3.23
Serina	68.47	68.10	68.33	71.73	0.01	2.42
Prolina	59.96	62.13	62.43	62.52	0.80	10.30
Glicina	48.29	46.15	46.68	48.92	0.71	7.39
Alanina	72.22	71.62	69.85	70.44	0.39	4.46
Tirosina	71.98	70.62	69.67	71.55	0.06	3.44

^a El análisis se realizó por HPLC (High Performance Liquid Chromatography) en la Experiment Station Chemical Laboratories, St. Louis MO, USA y se expreso en porcentaje de la digesta ileal.

^b T1 = Dieta base

^c T2 = Dieta base + fitasa

^d T3 = Dieta base + pancreatina

^e T4 = Dieta base + fitasa + pancreatina

Fitasa

Se realizó una comparación de medias entre tratamientos utilizando el procedimiento PROC GLM de SAS, (**Cuadro 9**) no se observaron diferencias entre tratamientos sin embargo en estudios realizados por Kornegay y Qian (1996) reportan que la adición de (500 FTU/kg) fitasa en dietas para cerdos tiene una respuesta no lineal en la digestibilidad de fósforo fítico, reduciendo la excreción de fosforo fítico hasta en 33.2%.

En el presente estudio se evaluó el efecto de la adición de fitasa sobre la DIA de AA pero no se encontraron diferencias en la comparación de medias ($P < 0.01$) entre tratamientos, sin embargo, en estudios realizados *in vivo*, por Jongbloed y Lenis (1998) observaron que la adición de fitasa mejora la digestibilidad aparente de la PC y los AA., de igual manera, en una revisión de la literatura que abarca 17 experimentos, reportan que la adición de fitasa produce una mejora del 0.85% en la digestibilidad total aparente de la proteína, lo cual no se vio reflejado en este trabajo (**Cuadro 9**) probablemente a que durante los cuatro periodos experimentales no se ajusto el consumo de alimento permaneciendo constante ($0.700 \text{ kg dieta día}^{-1}$) durante todo el experimento y como consecuencia el aporte de proteína también se mantuvo constante lo que nos hace concluir que probablemente la enzima no encontró el suficiente sustrato disponible para actuar, al respecto para posteriores estudios se sugiere ajustar los consumos de dieta ofrecida para cada periodo.

Cuadro 9. Comparación de medias entre tratamientos del efecto de la infusión duodenal de pancreatina en la digestibilidad ileal aparente de aminoácidos en dietas sorgo-pasta de soya adicionadas con fitasa para cerdos en crecimiento^a.

Determinación	Contraste 1	Contraste 2	Contraste 3	Contraste 4
	T1 VS T2 ^b	T1 VS T3 ^c	T1 VS T4 ^d	T2 VS T3 ^e
Proteína Cruda	0.82	0.44	0.94	0.51
AA esenciales				
Arginina	0.84	0.69	0.38	0.45
Histidina	0.73	0.29	0.95	0.30
Isoleucina	0.71	0.17	0.35	0.55
Leucina	0.73	0.27	0.76	0.42
Lisina	0.81	0.46	0.22	0.61
Metionina	0.52	0.11	0.37	0.33
Fenilalanina	0.69	0.20	0.54	0.44
Treonina	0.40	0.34	0.72	0.14
Valina	0.64	0.26	0.62	0.43
AA no esenciales				
Acido aspártico	0.73	0.63	0.93	0.60
Acido glutámico	0.87	0.87	0.95	0.52
Serina	0.78	0.92	0.02	0.05
Prolina	0.70	0.66	0.65	0.79
Glicina	0.60	0.69	0.88	0.44
Alanina	0.81	0.33	0.47	0.73
Tirosina	0.47	0.22	0.82	0.23

^a Medias basadas en 7 observaciones por tratamiento.

T1 = Dieta base; T2 = Dieta base+1000 FTU kg dieta⁻¹; T3 = Dieta base+591 mg de pancreatina kg dieta⁻¹ infundida en duodeno; T4 = Dieta base+1000 FTU kg dieta⁻¹+591 mg de pancreatina kg dieta⁻¹ infundida en duodeno.

^b T1 vs T2 (P < 0.10).

^c T1 vs T3 (P < 0.10).

^d T1 vs T4 (P < 0.10).

^e T2 vs T3 (P < 0.10).

Pancreatina

Las diferencias observadas en digestibilidad ileal aparente entre los distintos aminoácidos dentro de cada tratamiento coinciden con las observadas por Green y Miyasaka (1983), lo cual se puede explicar por las diferencias en la concentración de estos en la dieta, sin embargo se esperaba que la infusión duodenal de la pancreatina mejorara la digestibilidad ileal aparente de los aminoácidos de la dieta pero no fue así ya que no se presento diferencia en la

comparación por contrastes de los tratamientos esto pudo ser debido a las características fisicoquímicas del producto que se utilizó (**Cuadro 5**).

Las enzimas proteolíticas requieren la presencia de proteínas en duodeno para proporcionar el sustrato sobre el cual actuarán, de acuerdo a los resultados obtenidos se cree que la disponibilidad de proteína en el intestino delgado al momento de la infusión de la pancreatina no fue el adecuado y es probable que las enzimas endógenas reconocieron a la pancreatina y la digirieron inactivándola, aunque en la metodología no se contempló evaluación del peso y el tamaño del páncreas, al momento de recuperar las cánulas de los animales después del sacrificio fue evidente el aumento de tamaño del páncreas, al respecto Cuca et al (1996), mencionan que esto puede ser un indicativo para evaluar la actividad ureásica y la solubilidad de la proteína, lo cual se relaciona en parte con la disponibilidad de los aminoácidos en el intestino delgado al momento de la infusión, digestión y absorción de la proteína.

V. CONCLUSIONES

Con base en los resultados obtenidos y para las condiciones experimentales de esta investigación se puede concluir lo siguiente:

La infusión duodenal de pancreatina ($591 \text{ mg kg dieta}^{-1}$) en cerdos alimentados con dietas a base de sorgo-pasta de soya adicionadas con 1000 unidades fitasa por kilogramo de dieta no mejoro la digestibilidad ileal aparente de aminoácidos.

La digestibilidad ileal aparente de aminoácidos para cerdos en crecimiento alimentados con dietas a base de sorgo-pasta de soya adicionadas con 1000 unidades fitasa por kilogramo de dieta no se mejora.

VI. LITERATURA CITADA

- AOAC. 2000. Official Methods of Analysis. (14th Ed.). Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC.
- Asche, G. L., A. J. Lewis and E. R. Peo, Jr. 1989. Protein digestion in weanling pigs: Effect of feeding regimen and endogenous protein secretion. J. Nutr. 119:1083-1092.
- Baker, D. H. 1996. Ideal amino acid profiles for swine and poultry and their applications in feed formulation. Fermex Technical Review-9. Chesterfield, MO. pp. 2-24.
- Bedford, M. R., 1995. Mechanism of action and potential environmental benefits from the use of feed enzymes. Anim. Feed Sci. Tech. 53:145-155.
- CCAC. 1993. Guide to the Care and Use of Experimental Animals. Vol. 1. Canadian Council on Animal Care, Ottawa, ON.
- Cervantes, R. M., G. L. Cromwell, and T. S. Stahly. 1991. Amino acid supplementation of low protein, grain sorghum-soybean meal for growing pigs. J. Anim. Sci. 69 (Suppl. 1):364.
- Cervantes, R. M., and G. L. Cromwell. 1992. Amino acid supplementation of low protein, grain sorghum-soybean meal diets for pigs. J. Anim. Sci. 70 (Suppl. 1):235.
- Cervantes, R. M., G. L. Cromwell, and T. S. Stahly. 1992. Amino acid supplementation of low protein, grain sorghum-soybean meal diets for pigs. J. Anim. Sci. 70:115 (Abstr.).

- Cervantes, R. M. y G. L. Cromwell. 1997. Adición de aminoácidos, vitaminas y minerales a dietas sorgo-pasta de soya bajas en proteína, para cerdos en crecimiento. *Agrociencia* 31:143-148.
- Cervantes, R. M. 1997. Determinación de la digestibilidad *in vivo* de aminoácidos en cerdos. *In: Memorias de la VI Reunión Simposium Internacional sobre Nutrición Animal*. Universidad Autónoma de Nuevo León. Fac. de Agronomía. Marín, N. L. México. Pp 19-30.
- Cervantes, R. M., González, J., Torrentera, N., González, V. and Cuca, M. 1999. Ileal amino acid digestibility of low and high protein, grain sorghum-soybean meal diets added with a fungal protease in growing pigs. *Proc. W. S. Amer. Soc. Anim. Sci.* 50:297.
- Cervantes, R. M., V. M. González, M. J. González, S. Rodríguez, y L. Flores, 2000. Intestinal cannulation of growing pigs for pancreatic enzymes and amino acid digestibility studies. *Agrociencia* 34: 1524-1537.
- Chang, C. J., T. D. Tanksley, Jr., D. A. Knabe, and T. Zebrowska. 1987. Effects of different heat treatments during processing on nutrient digestibility of soybean meal in growing swine. *J. Anim. Sci.* 65:1273-1282.
- Cheryan, M., 1980. Phytic acid interactions in food systems. *CRC. Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 13:297-302.
- Church, D. C., W. G. Pond y K. R. Pond, 1996. *Basic Animal Nutrition and Feeding* ©John Wiley & Sons, Inc. New York.
- Close, W. H. 1996. Enzymes in action. *Pigs-Misset* 12(7): 21-24.

- Cromwell, G. L., V. W. Hayas, and J. R. Overfield. 1974. Lysine, methionine, choline, potassium and magnesium supplementation of diets for pigs. *J. Anim. Sci.* 39:974 (Abstr.).
- Cromwell, G. L., T. S. Stahlp, R. D. Coffey, H. J. Monegue, and J. H. Randolph, 1993. Efficacy of Phytase in Improving the Bioavailability of Phosphorus in Soybean Meal and Corn-Soybean Meal Diets for pig. *J. Anim. Sci.* 71:1831-1840.
- Cromwell, G. L. 2003. Update on phytase utilization in swine. Proc. Roche Pre-Conference Symposium, Easter Canadian Nutrition Conf., Quebec City. Hoffmann-LaRoche Ltd., Cambridge, Ontario.
- Cuca, G. M., Avila G. E. y Pro M. A. 1996. Alimentación de las aves. Universidad Autónoma Chapingo.
- D'Mello, J. P. F. 1993. Amino acid supplementation of cereal-based diets for non-ruminants. *Ainm. Feed Sci. and Tech.* 45:1-18.
- Forsberg, C. W., J. P. Phillips, S. P. Golovan, M. Z. Fan, R. G. Meidinger, A. Ajakaiye, D. Hilborn, and R. R. Hacker, 2003. The Enviropig physiology, performance, and contribution to nutrient management advances in a regulated environment: The leading edge of change in the pork industry. *J. Anim. Sci.* 81(E. Suppl. 2):E68–E77.
- Frandsen R. D. y T. L. Spurgeon. 1995. 5ª Ed. Anatomía y fisiología de los animales domésticos. Editorial Interamericana-McGraw-Hill. México DF.

- Fuller, M. F., I. Mennie, and M. J. Crofts. 1979. The amino acid supplementation of barley for the growing pig. 2. Optimal additions of lysine and threonine for growth. *Br. J. Nutr.* 41:333-340.
- Fushiki, T., H. Kajiura, S. Fukuoka, K. Kido, T. Semba, and K. Iwai. 1989. Evidence for an intraluminal mediator in rat pancreatic enzyme secretion: Reconstitution of the pancreatic response with dietary protein, trypsin and the monitor peptide. *J. Nutr.* 119:622-627.
- Ganong William F. 2004. 19^a Ed. *Fisiología Médica*. Editorial El Manual Moderno S.A. de C.V. México, D.F.
- Gatel, F. and F. Grosjean. 1992. Performance of pigs from two genotypes in relation to the amino acid content of the diet. *Livest. Prod. Sci.* 30:129.
- Green, G. M. and R. M. Lyman. 1972. Feedback regulation of pancreatic enzymes secretion as a mechanism for trypsin inhibitor induced hypersecretion in rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 140:6-12.
- Green, G. M. and K. Miyasaka. 1983. Rat pancreatic response to intestinal infusion of intact and hydrolyzed protein. *Am. J. Physiol.* 245:G394-G398.
- Hasen, J. A., D. A. Knabe, and K. G. Burgoon. 1993. Amino acid supplementation of low-protein sorghum-soybean meal diets for 20 to 50 kilogram swine. *J. Anim. Sci.* 71:442-451.
- Herrera, H. JG. y Barreras S. A. 2000. *Manual de procedimientos: ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE EXPERIMENTOS PECUARIOS (UTILIZANDO EL PROGRAMA SAS)*. Colegio de Postgraduados, Instituto de Enseñanza

e Investigación en Ciencias Agrícolas, Instituto de Recursos Genéticos y Productividad, Especialidad de Ganadería. Montecillo, Texcoco, Edo. Méx. México.

Hibbard, B., J. P. Peters, R. Y. W. Shen, and S. T. Chester. 1992. Effect of recombinant porcine somatotropin and dietary protein on pancreatic digestive enzymes in the pigs. *J. Anim. Sci.* 70:2188-2194.

Hill, F. N. and D. L. Anderson, 1958. Comparison of metabolizable energy and productive energy determination with growing pigs. *J. Nutr.* 64:587-603.

Hoseney, C. R. 1994. Principles of cereal science and technology 2nd ed. American Association of Cereal Chemists. Pp 65-79.

Iwai, K., S. Fukuoka, T. Fushiki, M. Tsujikawa, M. Hirose, S. Tsunasawa, and F. Sakiyama. 1987. Purification and sequencing of a trypsin-sensitive cholecystokinin-releasing peptide from rat pancreatic juice. *J. of Biol. Chem.* 262:8956-8959.

Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática (INEGI), 2001. Síntesis de información geográfica del estado de Baja California.

Jongbloed, A. W. and N. P. Lenis, 1998. Environmental Concerns About Animal Manure. *J. Anim. Sci.* 76:2641–2648.

Kerr, B. J. and R. A. Easter. 1995 Effect of feeding reduced protein, amino acid supplemented diets on nitrogen and energy balance in grower pigs. *J. Anim. Sci.* 73:3000/3008.

- Kerr, B. L. 1997. Dietas bajas en proteína en alimentación de cerdos. FERMEX. 9° Ciclo de Conferencias Sobre Aminoácidos Sintéticos. México, D.F. Septiembre de 1997. pp. 47-62.
- Kies Arie. K., 2005. Phytase studies in pigs and poultry. Effect on protein digestion and energy utilization. Doctoral Thesis, Wageningen Institute of Animal Sciences, Wageningen University, The Netherlands.
- Kornegay, E. T., 1996. Nutritional, environmental and economic considerations for using phytase in pig and poultry diets. Nutrient management of food animals to enhance and protect the environment. CRC Press Inc., New York. pp 277-302.
- Kornegay, E. T. and H. Qian, 1996. Replacement of inorganic phosphorus by microbial phytase for young pigs fed on a maize-soybean-meal diet. Br. J. Nutr. 76: 563-578.
- Kornegay, E. T., J. S. Radcliffe and D. M. Denbow, 1996. En: Phytase in Animal Nutrition and Waste Management (M.B. Coelho and E. T. Kornegay, eds), pp. 419-434. BASF Corp., NJ. Citados por: Kornegay, E. T., 1999.
- Kornegay, E. T., 1999. Application of phytase for retention of nonphosphorus nutrients. Proc. 46th Maryland Nutr. Conf., pp. 83-103.
- Kornegay, E. T., 2001. Digestion of phosphorus and other nutrients: The role of phytases and factors influencing their activity. In: Enzymes in Farm Animal Nutrition. (M.R. Bedford and G.G. Partridge, eds.), pp. 237-271.
- Knabe, D. A. 1996. Optimizing the protein nutrition of growing-finishing pigs. Anim. Feed Sci. and Tech. 60:331-341.

- Lavau, M., R. Bazin, and J. Herzog. 1974. Comparative effects of oral and parenteral feeding on pancreatic enzymes in the rat. *J. Nutr.* 104:1432-1437.
- Lewis, A. J. 2001. Amino acids in swine nutrition. *In*: A. J. Lewis and L. L. Southern (ed.). *Swine nutrition*. 2nd edition. CRC Press. Boca Raton, Florida.
- Liao S. F., Willem C. Sauer and Arie K. Kies, 2002. Supplementation of microbial phytase to swine diets: effect on utilization of nutrients. *Food science and product technology*. 199-227.
- Liao S. F., W. C. Sauer, A. K. Kies, Y. C. Zhang, M. Cervantes, and J. M. He, 2005. Effect of phytase supplementation to diets for weanling pigs on the digestibilities of crude protein, amino acids, and energy. *J. Anim. Sci.* 83:625–633.
- Liddle, R. A., G. M. Green, C. K. Conrad, and J.A. Williams. 1986. Proteins but not amino acids, carbohydrates, or fats stimulate cholecystokinin secretion in the rat. *Am. J. Physiol.* 215:G243-G248.
- Lin F. D., D. A. Knabe, and T. D. Tanksley, Jr. 1987. Apparent digestibility of amino acids, gross energy and starch in corn, sorghum, wheat, barley, oat groats and wheat middlings for growing pigs. *J. Anim. Sci.* 64:1655-1663.
- Lloyd, Y. E., Mc Donald, B. E. y Crampton, E. W. 1982. *Fundamentos de nutrición*. Ed. Acribia.

- NRC (National Research Council), 1998. Nutrient Requirements of Swine. 10th Edition. National academy press. Washington, DC.
- Padrón, Corral Emilio. 1996. Diseños Experimentales con aplicación a la agricultura y la ganadería. Editorial Trillas México D.F.
- Partridge, I. G., A. G. Low, and I. E. Sambrook. 1982. The influence of diet on the exocrine pancreatic secretion of growing pigs. Br. J. Nutr. 48:137-145.
- Pöhlend, U., W. B. Souffrant, W. C. Sauer, R. Mosenthin, and C. F. M. de Lange. 1993. Effect of feeding different diets on the exocrine pancreatic secretion of nitrogen, amino acid and enzymes in growing pigs. J. Sci. Food Agric. 62:229-234.
- Pointillart, A., 1991. Enhancement of phosphorus utilization in growing pigs fed phytate-rich diets by using rye bran. J. Anim. Sci. 69:1109-1115.
- Pointillart, A., 1994. Phytates, phytases: leur importance dans l'alimentation des monogastriques. INRA Prod. Anim. Nutr. 68: 1-9.
- Pointillart, A., 1999. Enhancement of phosphorus utilization in growing pigs fed phytate-rich diets by using rye bran. J. Anim. Sci. 69: 1109-1115.
- Pichardo A., Miguel Cervantes-Ramírez, Manuel Cuca, José L. Figueroa, Alfonso B. Araiza, Noemi Torrentera and Maximiliano Cervantes, 2003. Limiting Aminoacids in wheat for growing-finishing pigs. Inteciencia Vol. 28 N° 5.
- Rudolph, B. C., L. S. Boggs, D. A. Knabe, T. D. Tanksley, Jr., S. A. Anderson. 1983. Digestibility of nitrogen and amino acids in soybean meal products for pigs. J. Anim. Sci. 57:373-386.

- Russell, L. E., G. L. Cromwell and T. S. Stahly. 1983. Tryptophan, threonin, isoleucine and methionine supplementation of a 12% protein, lysine-supplemented, corn-soybean meal diet for growing pigs. *J. Anim. Sci.* 56:1115-1123.
- SAS (1988) SAS/STAT user's guide: Statistics. Release 6.03. SAS Institute, Inc., Cary, NC, USA, 956 pp.
- Sauer W. C., S. C. Stothers, and G. D. Phillips. 1977. Apparent availabilities of amino acids in corn, wheat and barley for growing pigs. *Can. J. Anim. Sci.* 57:585-597.
- Schutte, J. B. 2000. Effect of a Decrease in Dietary Protein on Performance, Carcass Quality and Environmental and Health Aspects in Pigs. In: Selected Topics in Animal Nutrition, Biochemistry and Physiology. Reviews presented at the symposium on the occasion of the retirement of Dr. R.R. Marquardt. University of Manitoba, Winnipeg, Canada. September 27, 2000. Editors: Willem Sauer & Jinming He. Department of Agricultural, Food and Nutrition Science Faculty of Agriculture, Forestry and Home Economics University of Alberta, Edmonton, Canada.
- Sharda, D. P., D.C. Mahan, And R.F. Wilson. 1976. Limiting amino acid in low-protein, corn-soybean meal diets for growing-finishing swine. *J. Anim. Sci.* 42:1175-1181.
- Shimizu, K., K. Shiratori, S. Watanabe, T. Takeuchi, T. M. Chang, and W. Y. Chey. 1994. Effect of protein derivatives on pancreatic secretion and release of secretin and CCK in rats. *Am. J. Physiol.* 267: G505-G514.

- Steel, R.G.D., and J H. Torrie. 1960. Principles and Procedures of Statistics: A Biometrical Approach. McGraw-Hill. New York. 481 p.
- Taylor, A. J., D. J. A. Cole, and D. Lewis. 1979. Amino acid requirements of growing pigs: 1 Effects of reducing protein level in diets containing high levels of lysine. *Anim. Prod.* 29:327-338.
- Temler, R. S., C. A. Dormond, E. Simon, Morel, and C. Mettraux. 1984. Response of rat pancreatic proteases to dietary proteins, their hydrolyzates and soybean trypsin inhibitor. *J. Nutr.* 114:270-278.
- Traylor S. L., G. L. Cromwell, M. D. Lindemann, and D. A. Knabe. 2001. Effects of level of supplemental phytase on ileal digestibility of amino acids, calcium, and phosphorus in dehulled soybean meal for growing pigs. *J. Anim. Sci.* 79:2634–2642.
- Tuitoeck, K., L. G. Young, C. F. M. de Lange and B. J. Kerr. 1997. The effect of reducing excess dietary amino acids on growing-finishing pig performance: An evaluation of the ideal protein concept. *J. Anim. Sci.* 75:1575-1583.
- Vincent, J. B., M. W. Crowder y B. A. Averill, 1992. Hydrolysis of phosphate monoesters: a biological problem with multiple chemical solutions. *Trends Biochem. Sci.* 17: 105-110.
- Wang, T. C. and M. F. Fuller. 1990. The effect of the plane of nutrition on the optimum dietary amino acid pattern of growing pigs. *Anim. Prod.* 50:155-164.

- Ward, T. L. and L. L. Southern. 1992. Sorghum-crystalline amino acid supplemented diets for finishing swine. *J. Anim. Sci.* 70: 235 (Abstr.).
- Wodzinski, R. J. and A. H. J. Ullah, 1996. Phytase. *Adv. Appl. Microbiol.* 42: 263-302.
- Wyss, M., R. Brugger, A. Kronenberg, R. Remy, R. Fimbel, G. Oesterheld, M. Lehman y A. P. G. M. van Loon, 1999. Biochemical characterization of fungal phytases (myo-inositol hexakisphosphate phosphohydrolases): catalytic properties. *Appl. Environ. Microbiol.* 65: 367-373.
- Yi, Z. y E. T. Kornegay, 1996. Sites of phytase activity in the gastrointestinal tract of young pigs. *Anim. Feed Sci. Technol.* 61: 361-368.
- Yi Z., E. T. Kornegay, V. Ravindran, M. D. Lindemann, and J. H. Wilson, 1996. Effectiveness of Natuphos^â Phytase in Improving the Bioavailabilities of Phosphorus and Other Nutrients in Soybean Meal-Based Semipurified Diets for Young Pigs. *J. Anim. Sci.* 74:1601–1611.
- Zebrowska, T., A. G. Low, and H. Zebrowska. 1983. Studies on gastric digestion of protein and carbohydrate, gastric secretion and exocrine pancreatic secretion in the growing pig. *Br. J. Nutr.* 49:401-410.