

IMPORTANCIA DE LA UTILIZACIÓN DE DIFERENTES TÉCNICAS DE DIGESTIBILIDAD EN LA NUTRICIÓN Y FORMULACIÓN PORCINA

IMPORTANCE OF THE USE OF DIFFERENT DIGESTIBILITY TECHNIQUES IN PIG NUTRITION AND FOOD FORMULATION

Jaime Parra S¹, MSc, Andrés Gómez Z², Zoot.

¹Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Departamento de Producción Animal, Grupo BIOGEM, Sede Medellín, Colombia, AA 1779. ²Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias, Sede Medellín, Colombia. *Correspondence: E-mail: jeparrasu@unal.edu.co

Recibido: Abril 4 de 2008; Aceptado: Diciembre 5 de 2008

RESUMEN

El valor nutricional de una ración para cerdos, puede ser expresado mediante el coeficiente de digestibilidad y según el lugar de colecta de la muestra se determina el tipo de digestibilidad: 1) Digestibilidad ileal (DI), tiene como finalidad incrementar la exactitud en la determinación del aporte de los nutrimentos, mediante la utilización de animales modificados quirúrgicamente. 2) Digestibilidad fecal (DF), es una técnica simple de realizar, sin embargo, la proporción digestible de un nutrimento es modificada por las bacterias del intestino grueso, observándose un cambio en el perfil de aminoácidos del contenido ileal con respecto al perfil en las heces. Independientemente del lugar y de la técnica empleada para la obtención de la muestra, se pueden determinar varios tipos de digestibilidad: 1) Digestibilidad aparente (DA), con este método no se conoce la proporción de la proteína y/o aminoácidos (AA) que provienen de la dieta o de la secreción de nitrógeno endógeno (NE), y solo permite asumir que cantidad del alimento fue asimilado por el animal. 2) Digestibilidad verdadera (DV), contempla la excreción de NE en sus cálculos, por lo cual ofrece un valor más exacto de la digestión de algún alimento. 3) Digestibilidad real, es determinada mediante la corrección de la DA de los AA por la cantidad de AA endógenos usando una técnica de dilución isotópica. 4) Digestibilidad estandarizada, es calculada mediante la corrección de la DA por las pérdidas endógenas mínimas de AA usando un flujo promedio de AA endógenos.

Palabras clave: Cerdos, técnicas de digestibilidad, aminoácidos

ABSTRACT

The nutritional value of a meal for pigs could be expressed using a digestibility coefficient whereas the type of digestibility may be assessed by the point of origin of the sample: 1) ileal Digestibility (IDI), attempts to increase the accuracy in the assessment of a nutrient contribution by using surgically modified animals. 2) fecal Digestibility (FD), is a simple technique, marred by the fact that the digestible proportion of a nutrient is modified by bacteria in the large intestine, showing a change in the amino acid profile of the ileum content compared to the one in feces. Regardless of the place and the technique used to obtain the sample, different types of digestibility can be observed: 1) apparent digestibility (AD), this method does not allow to know the proportion of protein and/or amino acids (AA) associated with the diet nor the proportion of endogen nitrogen secretion (EN), furthermore, the amount of food assimilated by the animal can only be assumed. 2) True Digestibility (TD), includes the value of EN excretion in its determination, therefore, it offers a more accurate digestion values of a given food item. 3) Real Digestibility is determined by correcting the AA DA by the quantity of endogen AA using an isotopic dilution technique. 4) Standard Digestibility is determined by correcting the AD by the minimum AA endogen loss using an average flux of endogen AA.

Key words: pigs, digestibility techniques, aminoacids

INTRODUCCIÓN

La porcicultura ocupa un lugar muy importante en la producción de alimentos para consumo humano. En Colombia, esta rama de la ganadería generó 112.000 toneladas de carne en 2004 (1), caracterizándose por un aumento en la proporción de cerdos criados en confinamiento, con altos grados de tecnificación. Esta intensificación de la producción (a nivel nacional e internacional) ha planteado nuevos retos, entre ellos, el de aumentar la eficiencia productiva y al mismo tiempo reducir la contaminación ambiental ocasionada por la concentración de animales por unidad de superficie y por la excreción del NE.

La producción porcina como todo proceso de transformación, depende de las materias primas con las que se fabrica el alimento, por lo que es necesario conocer el valor de cada una de ellas, y a través de un buen manejo nutricional, aportar los nutrimentos con la mayor precisión para obtener de manera mas eficiente un producto de alta calidad.

El nutricionista cuenta con varias herramientas técnicas que le pueden ayudar

a dar una respuesta adecuada a esta problemática, entre ellas la de mayor importancia es el empleo de los coeficientes de digestibilidad de la proteína y de los aminoácidos en la formulación de raciones (2). La utilización de esta técnica permite una mejor eficiencia en la transformación de la proteína alimenticia en carne, y disminuyen el desperdicio de compuestos nitrogenados.

Determinación de la digestibilidad.

El proceso digestivo es un conjunto de fenómenos cuyo objetivo es proporcionar nutrimentos al animal, y está compuesto por el proceso de ingestión de alimento, la secreción de ácido clorhídrico y de enzimas en el tracto gastrointestinal, la hidrólisis de macromoléculas, la absorción de nutrientes y la excreción de productos de desecho (3). La combinación de los procesos de digestión y absorción es conocida como la digestibilidad de un nutrimentos (4), y está íntimamente relacionada con el valor nutritivo de los alimentos.

El valor nutrimental de una ración, alimento o nutrimento para cerdos, puede ser expresado mediante el coeficiente de

digestibilidad, el cual es la proporción del alimento que no es excretada y que se supone por tanto, ha sido absorbida (5). La digestibilidad de un alimento es siempre inferior al 100%, ya que durante la digestión y absorción se producen pérdidas de nutrimentos.

Henry (6), especifica que según el lugar de colecta de la muestra se determina el tipo de digestibilidad: "Digestibilidad ileal" cuando se obtiene la muestra antes de la válvula ileocecal; y "Digestibilidad fecal" cuando se colectan las heces.

La utilización de la técnica de digestibilidad ileal en lugar de la digestibilidad fecal permite medir la digestibilidad de origen enzimático que se lleva a cabo en el intestino delgado (7).

a. Digestibilidad ileal (DI). La DI tiene como finalidad incrementar la exactitud en la determinación del aporte de los nutrimentos, y por tanto hacer de la formulación de raciones para animales domésticos una metodología más eficiente. La DI se determina mediante la colecta de la digesta ileal antes de atravesar la válvula íleo-cecal. Varios métodos de muestreo han sido utilizados, siendo de gran importancia el uso de animales modificados quirúrgicamente (canulados o anastomosados) o el sacrificio de animales intactos (8). Entre estos métodos de muestreo se encuentran:

Técnica del sacrificio. Es la técnica más antigua y simple que ha sido empleada en la determinación de la digestibilidad. Esta técnica consiste en la remoción de la parte terminal del intestino delgado de animales anestesiados o recientemente sacrificados, con la posterior recolección manual de la digesta. Los animales son sacrificados a ciertos intervalos de tiempo (usualmente 6-9 h después de ser alimentados), y la digesta es colectada de los últimos 20-40 cm del intestino delgado (8). Esta técnica presenta algunas desventajas, ya que solo proporciona una observación por animal y materia prima. Además, es muy complicado obtener muestras adecuadas de heces (para estudios de digestibilidad de energía) y de dietas altamente digestibles, lo que conlleva a la

utilización de un mayor número de animales para su determinación. Sin embargo, con esta técnica se corre el riesgo de que la muestra sea contaminada por células de la mucosa intestinal que se desprenden rápidamente hacia el lumen intestinal después del sacrificio, lo que puede incrementar el contenido de nitrógeno en la digesta (4). Este problema puede ser minimizado si se anestesian los animales y la digesta es colectada rápidamente (9).

Técnicas de canulación. Varios procedimientos de canulación han sido usados para facilitar la colección del contenido ileal, ya que se puede obtener más de una muestra por animal y así evitar las críticas a la técnica del sacrificio. Estos procedimientos pueden ser clasificados en varias categorías.

Cánula reentrante. El uso de esta técnica en cerdos fue primero sugerida por Cunningham et al (10). Las canulaciones reentrantes tienen la ventaja de permitir la colección cuantitativa y representativa del contenido ileal, y que además, no requieren el uso de marcadores. Existen tres variantes: cánula reentrante íleo-íleo (CRII), cánula reentrante ileocecal (CRIC) y técnica de fistulación íleo-cólica postvalvular (FICPV). En la CRII, el íleon terminal es seccionado 15-20 cm antes de la unión íleo-cecal y una cánula es insertada en los dos extremos resultantes. Los mayores problemas de la CRII son la completa transección del intestino delgado con interrupciones en su funcionamiento normal (11), y la alta incidencia de bloqueos anteriores a la cánula, particularmente cuando se utilizan alimentos fibrosos o partículas gruesas (12).

Para utilizar la técnica de CRIC, es necesario seccionar el íleon e insertar la cánula entre la parte proximal del íleon y el ciego (cerca de la unión íleo-cecal). La principal ventaja de esta técnica, es la simplicidad de la intervención quirúrgica y su rápida recuperación postoperatoria. Además, el empleo de esta técnica permite la completa recolección de la digesta, evitando el uso de marcadores digestivos. En la CRIC el puenteo de la válvula íleo-cecal puede modificar el tiempo de estancia del

contenido ileal en intestino delgado, debido al posible riesgo de bloqueo de la cánula por la utilización de materias primas fibrosas (13), y a la colonización del íleon por bacterias del intestino grueso (14). La FICPV, mantiene la integridad del intestino delgado y preserva el funcionamiento de la válvula íleo-cecal, lo que permite el reflujo normal de la digesta hacia el intestino (14). Sin embargo, es una técnica complicada en su desarrollo y en el manejo de animales, ya que el contenido ileal es colectado continuamente y debe ser retornado al intestino grueso en intervalos regulares (15).

Cánula T simple. Esta técnica implica el uso de una pieza en forma de T, la cual es insertada en el íleon terminal, aproximadamente 15 cm antes de la válvula íleo-cecal (16). Esta ha sido considerada la técnica de canulación menos invasiva, ya que mantiene el complejo mioeléctrico migratorio responsable de la motilidad intestinal. Esta cánula es fácil de implantar y es muy tolerada por el animal. Con esta técnica el flujo intestinal es dividido en una porción que continúa a lo largo del intestino y el resto se desplaza a través de la cánula. La cánula T no permite la completa colección de la digesta, por lo que se hace necesario el uso de un marcador indigestible en la dieta, sin embargo, se puede recobrar entre 60-95% de la digesta si ésta es colectada continuamente a través de la cánula; y además, es difícil obtener muestras representativas, ya que en algunos casos la composición de la muestra obtenida puede variar debido al diámetro interno de la cánula, a la frecuencia y duración del muestreo, y a la viscosidad o contenido de fibra de la dieta (12), ya que la cánula puede presentar bloqueos cuando se ofrecen dietas altas en fibra (17).

Otra desventaja que presenta esta técnica es el escape de digesta alrededor de la base de la cánula, lo cual causa incomodidad al animal y eventualmente resulta en la terminación de las colectas. Esta técnica tiene la ventaja de ser una cirugía relativamente simple, que permite realizar colectas por largos períodos de tiempo. Además, las muestras fecales pueden ser tomadas para análisis y los animales pueden ser utilizados

para varias colectas (18), sin embargo, puede verse afectado el crecimiento de los animales.

Cánula cecal post-valvular en "T". Esta técnica implica la remoción del ciego (aproximadamente dos terceras partes) a excepción del área que rodea la válvula íleo-cecal, donde es implantada una cánula "T" y exteriorizada en el flanco izquierdo (19). Este método permite una colecta cuantitativa de la digesta ileal y no interfiere con el normal funcionamiento del intestino, válvula íleo-cecal y/o colon. Además, las cánulas pueden ser remplazadas a medida que el animal se desarrolla (20), y el diámetro de la cánula es lo suficientemente amplio para evitar bloqueos, por tanto, no hay ninguna restricción en el tipo de dieta con la que se alimentan los animales. Esta técnica permite recolectar bolsas de nylon usadas en estudios de digestibilidad.

Técnica de la anastomosis. El uso de cánulas conlleva a problemas tales como el bloqueo del tránsito intestinal, representatividad de la muestra obtenida y la alteración de la motilidad normal del intestino. Debido a esto, Fuller y Livingstone (21) desarrollaron la técnica de la anastomosis íleo-rectal termino-lateral, la cual consiste en realizar una anastomosis de la parte final del íleon con el recto, permitiendo la obtención de contenido por vía anal. En esta versión la comunicación entre el intestino grueso y el recto es conservada, lo que favorece el reflujo de contenido ileal en el intestino grueso y su modificación por la flora microbiana. Esta técnica mantiene la integridad de la válvula íleo-cecal y elimina la necesidad de usar marcadores en la dieta, además, esta técnica no presenta problemas de bloqueo (22). Así, Picard et al (23), propusieron la anastomosis íleo-rectal termino-terminal con aislamiento del intestino grueso. Con esta técnica se realiza un aislamiento completo del intestino grueso, evitando el problema del reflujo, y a su vez, la contaminación del íleon terminal.

La evacuación de los gases se efectúa a través de una cánula "T" simple implantada en el intestino grueso y exteriorizada en el flanco izquierdo del animal. Una variante a esta última técnica es la anastomosis íleo-rectal post-valvular, propuesta por Chabeauti

et al (24), la cual permite conservar de manera funcional la válvula ileocecal, evitando así la mayor crítica a esta técnica quirúrgica.

b. Digestibilidad fecal. Es una técnica simple de realizar, ya que se obtiene al estimar la diferencia entre lo ingerido y lo excretado en heces. Sin embargo, la proporción digestible de un nutrimento es modificada por las bacterias del intestino grueso, por lo que se observa un cambio en el perfil de AA del contenido ileal con respecto al perfil en las heces. La microflora en el intestino grueso de los cerdos, tiene la capacidad de degradar fuentes de nitrógeno exógeno y endógeno a través de procesos de deaminación y descarboxilación de todos los AA, hidrólisis de urea y síntesis de proteína microbial (25). Los productos finales de la fermentación de compuestos nitrogenados por la microflora en el intestino grueso son amonio, aminas, ácidos grasos volátiles y aminoácidos microbiales. El amonio es utilizado por la microflora como fuente principal de nitrógeno para la síntesis de AA bacterianos (26).

Además, un gran número de grupos de bacterias intestinales tienen la capacidad de producir aminas vía descarboxilación de AA. Algunas aminas como cadaverina, histamina y putrecina son encontradas en el colon de algunas especies, y son farmacológicamente activas en el intestino. Normalmente, las aminas son rápidamente absorbidas del colon y detoxificadas por la mucosa intestinal o el hígado, o simplemente son excretadas en orina. El incremento en la producción de aminas está asociado con diarreas al destete de lechones con concentraciones particularmente altas de putrecina y cadaverina (27).

Por lo anterior, la digestibilidad ileal está mejor correlacionada con la deposición de proteína que la digestibilidad fecal ($R^2 = 0.81$ y $R^2 = 0.75$ respectivamente) (28, 29).

Tipos de digestibilidad.

Independientemente del lugar y de la técnica empleada para la obtención de la muestra, se pueden determinar varios tipos de digestibilidad (30).

a. Digestibilidad aparente (DA). Es evaluada a partir de la digesta ileal y/o heces. Con este método no se conoce la proporción de la proteína que proviene de la dieta o de la secreción de nitrógeno endógeno (NE), y solo permite asumir que cantidad del alimento fue asimilado por el animal. Las principales pérdidas de NE provienen de mucoproteínas, enzimas pancreáticas e intestinales, saliva, secreciones biliares y gástricas, y células descamadas de la mucosa intestinal (31), así como de la proteína de origen bacteriano (32). Los valores de DA son afectados por el nivel de proteína cruda (PC) en la dieta.

Con una dieta baja en PC, los aminoácidos (AA) de fuentes endógenas conforman una alta proporción del total de los AA que alcanzan el íleon terminal. A medida que el nivel de PC en la dieta se incrementa, la proporción de AA de fuentes endógenas disminuye y la DA de la PC de la dieta aumenta. Debido a lo anterior, la DA es subestimada si esta es determinada en dietas con bajos niveles de PC (33). La DA puede ser calculada como se muestra en la ecuación 1.

$$\text{Ecuación 1: } DA = ((AA_c - AA_x) / AA_c) * 100$$

Donde:

DA = Digestibilidad aparente

AA_c = Aminoácido consumido

AA_x = Aminoácido excretado

Recientemente Fan y Sauer (34), han utilizado el método de la diferencia para estimar la DA de materias primas con bajo contenido de proteína. Este método consiste en la formulación de una dieta basal (alta en proteína), así como de una dieta a evaluar. La dieta basal contiene la fuente de PC que se proporciona a los animales como única fuente de nitrógeno y AA, mientras que la dieta a evaluar está constituida de una mezcla de la dieta basal y del ingrediente a evaluar. Si no hay interacción entre el valor de la digestibilidad de los AA de la dieta basal y del ingrediente a evaluar, la digestibilidad del ingrediente a evaluar puede ser obtenido por diferencia empleando la fórmula propuesta por Fan y Sauer (34) (ecuación 2).

$$\text{Ecuación 2: } DA = (Dd - Db * Sb) / Sa$$

Donde:

DA= Digestibilidad aparente

Dd= Digestibilidad aparente en la dieta ensayo

Db= Digestibilidad aparente en la dieta basal

Sb= Nivel de contribución del nutrimento del alimento basal en la dieta ensayo (1-Sa)

Sa= Contribución del nutrimento del alimento ensayo a la dieta ensayo

b. Digestibilidad verdadera (DV).

Es evaluada a nivel ileal y/o fecal, este método contempla la excreción de NE en sus cálculos, por lo cual ofrece un valor más exacto de la digestión de algún alimento. Como consecuencia, los valores de DV no son afectados por el contenido de PC de la dieta. Este método permite elaborar dietas en las cuales los requerimientos del alimento sean aportados de manera apropiada. Además, para el caso de la proteína, ayudará a suplir a los animales de manera adecuada (35). La digestibilidad aparente puede ser calculada como se muestra en la ecuación 3.

$$\text{Ecuación 3: } DV = ((AA_C - AA_X + AA_E) / AA_C) * 100$$

Donde:

DV = Digestibilidad verdadera

AA_C = Aminoácido consumido

AA_X = Aminoácido excretado

AA_E = Aminoácido endógeno

AA_E, es definido como la cantidad de nitrógeno o AA que aparecen en el contenido ileal o heces de animales que consumen un régimen libre de nitrógeno (31).

Existen varios métodos para estimar la digestibilidad ileal verdadera, entre ellos se encuentran:

El método directo. Es un método en donde la dieta ensayo es formulada de tal manera que el alimento a ensayar, es la única fuente de PC y AA. Este método se utiliza principalmente para determinar el coeficiente de digestibilidad de PC y de AA en aquellos alimentos que contienen altos niveles de PC.

Sin embargo, es menos confiable para ingredientes que contienen bajos niveles de dichos nutrientes, ya que hay una disminución

en la digestibilidad de estos ingredientes, debido a un mayor peso específico de la excreción endógena (6). La DA puede ser calculada de la siguiente manera (36):

$$DA = 100\% - ((Md \times Nf) / (Nd \times Mf)) \times 100\%$$

Donde:

DA= Digestibilidad aparente

Md= Concentración del marcador en la dieta (%)

Nf= Concentración del nutrimento en la digesta ileal o heces (%)

Nd = Concentración del nutrimento en la dieta (%)

Mf= Concentración del marcador en la digesta ileal o heces (%)

El método de la diferencia. Este método consiste en la formulación de una dieta basal, como de una dieta a evaluar. La dieta basal contiene la fuente de PC que se proporciona a los animales como única fuente de nitrógeno y AA, mientras que la dieta a evaluar está constituida de una mezcla de la dieta basal y del ingrediente a evaluar. Si no hay interacción entre el valor de la digestibilidad de los AA de la dieta basal y del ingrediente a evaluar, la digestibilidad del ingrediente a evaluar puede ser obtenida por diferencia empleando la fórmula propuesta por Fan y Sauer (34).

$$Ddif = (Dd - Db * Sb) / Sa$$

Donde:

Ddif= Digestibilidad por diferencia

Dd= Digestibilidad de un nutrimento en la dieta ensayo (%)

Db= Digestibilidad de un nutrimento en la dieta basal (%)

Sb= Nivel de contribución de un nutrimento de la dieta basal en la dieta ensayo (Sb= 1 - Sa)

Sa= Nivel de contribución de un nutrimento a evaluar en la dieta ensayo

El método de regresión. Este método mide simultáneamente el valor de digestibilidad en una dieta basal y del alimento a evaluar (37). La dieta basal y el alimento a evaluar son mezclados en varias proporciones conformando una serie de dietas ensayo donde se utilizan niveles

crecientes de proteína. La relación entre el valor de digestibilidad del nutrimento en la dieta ensayo, el nivel de contribución del nutrimento desde la dieta basal y el alimento a evaluar a la serie de dietas ensayo, permitirá determinar el grado de digestibilidad (6).

$$D_{reg} = D_a + (D_b - D_a) S_b$$

Donde:

D_{reg} : Digestibilidad por regresión de la dieta ensayo.

D_a : Digestibilidad de un nutrimento en la dieta ensayo (%).

D_b : Digestibilidad de un nutrimento en la dieta basal (%).

S_b : Nivel de contribución de un nutrimento de la dieta basal en la dieta ensayo.

c. Digestibilidad real. La digestibilidad real es determinada mediante la corrección de la DA de los AA por la cantidad de AA endógenos usando una técnica de dilución isotópica, lo cual implica la marcación del nitrógeno de la dieta con el isótopo pesado ^{15}N (38)

d. Digestibilidad estandarizada. La digestibilidad estandarizada de AA es calculada mediante la corrección de la DA por las pérdidas endógenas mínimas de AA usando un flujo promedio de AA endógenos (39). Los flujos de AA endógenos utilizados en este método, fueron calculados de experimentos que utilizaron cinco diferentes métodos para estimar las pérdidas mínimas de AA endógenos (excluyendo efectos de

fibra o factores antinutricionales). Si el objetivo principal es el de comparar diferentes materias primas, es recomendable estimar la DV, ya que de esta manera las comparaciones estarán menos afectadas por factores inherentes a cada determinación, como son el nivel de proteína y la composición de la dieta (2).

En conclusión, los coeficientes de digestibilidad de AA de los alimentos usados en dietas para cerdos es probablemente la determinación más importante de la utilización de ellos por el animal. La utilización de la técnica de digestibilidad ileal en lugar de la digestibilidad fecal permite medir la digestibilidad de origen enzimático que se lleva a cabo en el intestino delgado y evitar así, los efectos modificadores del metabolismo de la población bacteriana sobre los AA en ciego e intestino grueso. La digestibilidad ileal de aminoácidos puede ser determinada de muchas maneras, entre ellas se encuentran la aparente, verdadera, real y estandarizada. Además, hay gran variedad de métodos para determinar la digestibilidad de AA; esto incluye los métodos directo, diferencia y regresión. La elección del método a utilizar para la determinación de la digestibilidad ileal de AA dependerá principalmente de algunas características inherentes del alimento, como son el nivel de proteína, nivel de inclusión en la dieta, y la palatabilidad; y además, de la experiencia del investigador, duración del experimento, tipo de dieta utilizada, y del estado fisiológico y sanitario del animal.

REFERENCIAS

1. Espinal GCF, Martínez CHJ, Acevedo GX. 2005. La cadena de cereales, alimentos balanceados para animales, avicultura y porcicultura en Colombia. Una mirada global de su estructura y dinámica. 2005. http://www.agrocadenas.gov.co/balanceados/documentos/caracterizacion_cereales.pdf
2. Fan MZ, Sauer WC, Hardin RT, Lien KA. Determination of apparent ileal amino acid digestibility in pigs: effect of dietary amino acid level. *J Anim Sci* 1994; 72: 2851-2859.
3. Lizardo R. Exploration de l'adaptation de la capacité digestive du porcelet après le sevrage: effets des facteurs antinutritionnels et des polysaccharides non amilacés sur l'activité des enzymes, la digestibilité et les performances zootéchniques. [Thèse de Doctorat]. France: Université de Rennes I; 1997.
4. Low AG. Digestion and absorption of nutrients in growing pigs. *Proc Nutr Soc* 1976; 35:57-62.

5. Reis de Souza TC, Mariscal LG. 1997. El destete, la función digestiva y la digestibilidad de los alimentos en cerdos jóvenes. *Téc Pecu Méx* 1997; 35: 145-150.
6. Henry Y. Signification de la proteíne equilibree pour le porc: intérêt et limits. *INRA Prod Anim* 1988; 1: 65-75.
7. Williams PEV. Digestible amino acid for non-ruminant animal: Theory and recent challenges. *Anim Feed Sci Techno* 1995; 53: 173-178.
8. Nyachoti CM, de Lange CFM, McBride BW, Schulze H. Significance of endogenous gut nitrogen losses in the nutrition of growing pigs: A review. *Can J Anim Sci* 1997; 77: 149-163.
9. Moughan P J, Smith WC. 87. A note on the effect of cannulation of the terminal ileum of the growing pig on the apparent ileal digestibility of amino acids in ground barley. *Anim Prod* 1987; 44: 319-321.
10. Cunningham HM, Friend DW, Nicholson JWG. 1962. Note on a re-entrant fistula for digestion studies whit pigs. *Can J Anim Sci* 1962; 42: 112-113.
11. Sauer WC, Lange CFM. Novel methods determining protein and amino acids digestibilities in feedstuffs. En: S. Nissen, ed. *Modern methods in protein nutrition and metabolism*. London, UK: Academic Press, Inc., 1992.
12. Sauer W, Ozimek L. Digestibility of amino acid in swine: Results and their practical applications. A review. *Livest Prod Sci* 1986; 15: 367-388.
13. Darcy-Vrillon B, Laplace JP, Villiers PA. Collection of digesta flowing into the large intestine after post-ileocolic valve fistulation: preliminary results. *Reprod Nutr Dev* 1980; 20: 1197-202.
14. Laplace JP, Darcy-Vrillon B, Duval-Iflah Y, Raibaud P. Proteins in the digesta of the pig: amino acid composition of endogenous, bacterial and fecal fractions. *Reprod Nutr Dev* 1985; 25: 1083-1899.
15. Darcy-Vrillon B, Laplace JP. Digesta collection procedure may affect ileal digestibility in pigs fed diets based on wheat bran or beet pulp. *Anim Feed Sci Techno* 1990; 27: 307-316.
16. Imbeah M, Sauer WC, Mosenthin R. The prediction of the digestible amino acid supply in barley-soybean meal or canola meal diets and pancreatic enzyme secretion in pigs. *J Anim Sci* 1998; 66: 1409-1417.
17. Butts CA, Moughan PJ, Smith WC, Reynolds GW, Garrick DJ. The effect of food dry matter intake on endogenous ileal amino acid excretion determined under peptide alimentation in the 50 kg liveweighth pig. *J Sci Food Agric* 1993; 62: 235-243.
18. Batterham ES, Andersen LM, Baigent DR. Utilization of ileal digestible amino acids by growing pigs: Methionine. *Br J Nutr* 1994; 70: 711-720.
19. van Leeuwen P, van Kleef DJ, van Kempen GJM, Huisman J, Verstegen, MWA. The post-valve T-caecum cannulation technique in pigs applicated (sic) to determine the digestibility of amino acid in maize, groundnut, and sunflower seed. *J Anim Physio Anim Nutr* 1991; 65: 183-193.
20. Van Leeuwen P, Huisman J, Baak M, van Kleef D, Verstegen MWA, den Hartog LA. A new technique for cuantitative collection of ileal chime in pigs. En: *Proc. 4th International Seminar on Digestive Physiology in the Pigs*. Jablonna, Poland: 1998.
21. Fuller MF, Livingstone RM. Annual report of studies in Animal Nutrition and allied Sciences. Scotland: Rowett Research Institut; 1982.
22. Köhler T, Verstegen MWA, Huisman J, den Hartong LA, Ahrens F. Effect of ileo-rectal anastomosis and post-valve T- caecum cannulation of growings pigs. 1. Growth performance, N-balance and intestinal adaptation. *Br J Nutr* 1992; 68: 293-303.

23. Picard M, Bertrand S, Genin F, Maillard M. Digestibilité des acides aminés: intérêt de la technique du shunt ileo-rectal chez le porc. *Journées de la Recherche Porcine* 1984; 16: 355-360.
24. Chabeauti E, Noblet J, Carré B. Digestion of plant cell walls from four different sources in growing pigs. *Anim Feed Sci Techno* 1991; 32: 207-213.
25. Low AG, Zebrowska T. Digestion in pigs. En: *Protein Metabolism in Farm Animals. Evaluation, Digestion, Absorption and Meatbolism* (eds. Bock H-D, BO Eggum, AG Low, O Simon, and T Zebrowska). Oxford, UK; Ed Oxford University Press; 1989.
26. Takahashi M, Beno Y, Mitsuoka T. Utilization of ammonia nitrogen by intestinal bacteria isolated from pigs. *Appl Environ Microbiol* 1980; 39: 30-35.
27. Allison MJ, Robinson IM, Bucklin JA, Booth GD. Comparison of bacterial populations of the pig cecum and colon based upon enumeration with specific energy sources. *Appl Environ Microbiol* 1979; 37: 1142-1151.
28. Dierick NA, Vervaeke IJ, Decuyper JA, Hendrick HK. Influence of the gut flora and of some growth-promoting feed additives on nitrogen metabolism in pigs. I Studies in vivo. *Lives Prod Sci* 1986; 14: 177-193.
29. Just A, Jorgensen H, Fernandez JA. Correlation of protein deposited in growing female pigs to ileal and faecal digestible crude protein and amino acids. *Lives Prod Sci* 1985; 12: 145-149.
30. Low AG. Digestibility and availability of amino acids from feedstuffs for pigs. *Lives Prod Sci* 1982; 9: 511-520.
31. Souffrant WB. Endogenous nitrogen losses during digestion in pigs. En: MWA Verstegen, J Huisman, den Hartog, L.A. (eds.), *Proc. of the 5th International Symposium on Digestive Physiology in Pigs*. Pudoc, Wageningen, The Netherlands. 1991.
32. Caine WR, Sauer WC, Tamminga S, Verstegen MWA, Schulze H. Apparent ileal digestibilities of amino acids in newly weaned pigs fed diets with protease-treated soybean meal. *J Anim Sci* 1997; 75: 2962-2969.
33. Sauer WC, Dungan M, de Lange K, Imbeah M, Mosenthin R. Considerations in methodology for the determination of amino acid digestibilities in feedstuffs for pigs. En: Friedman, M. (ed). *Absorption and Utilization of amino acid of Amino Acid*, Vol. III. Boca Raton, Florida: CRC Press; 1989.
34. Fan MZ, Sauer WC. Determination of apparent ileal amino acid digestibility in barley and canola meal for pigs with the direct, difference and regression methods. *J Anim Sci* 1995; 73: 2364-2374.
35. Low AG. Protein evaluation in pigs and poultry. En: *Physiology Digestive Feedstuffs Evaluation*. Butterworth, London: 1990.
36. Fan MZ, Sauer WC, Gabert VM. Variability of apparent ileal amino acid digestibility in canola meal for growing-finishing pigs. *Can J Anim Sci* 1996; 76: 563-569.
37. Fan MZ, Sauer WC. Determination of true ileal amino acid digestibility in feedstuffs for pigs with linear relationships between distal ileal outputs and dietary inputs of amino acids. *J Sci Food Agri* 1997; 73: 189-199.
38. de Lange CMM, Souffrant WB, Sauer WC. Real ileal protein and amino acid digestibilities in feedstuffs for growing pigs as determined with the 15N-Isotope dilution technique. *J Anim Sci* 1990; 68: 409-418.
39. Rademacher M, Sauer WC, Jansman JM. Standardized ileal digestibility of amino acids in pigs. Frankfurt, Germany: Degusa-Hüls; 1999.