

# **Pérdidas endógenas de nitrógeno y aminoácidos en cerdos y su aplicación en la estimación de los coeficientes de digestibilidad ileal de la proteína y aminoácidos de las materias primas. Revisión**

## **Endogenous amino acid and nitrogen loss and its value for estimating protein and amino acid ileal digestibility of feedstuffs. Review**

Gerardo Mariscal Landín<sup>a</sup>, Tércia Cesária Reis de Souza<sup>b</sup>, Adriana Alejandra Hernández Delgado<sup>a</sup>, Konigsmar Escobar García<sup>b</sup>

### **RESUMEN**

En el presente trabajo se revisa el origen de las pérdidas endógenas de nitrógeno y aminoácidos y su uso en la estimación de los coeficientes de digestibilidad estandarizada; además se analizan los factores que modulan su cantidad y composición. También se explica su uso en los cálculos de los diferentes modos en que se expresa la digestibilidad (aparente, estandarizada y verdadera) y el porqué los coeficientes de digestibilidad estandarizada son los empleados en la formulación de raciones para cerdos.

**PALABRAS CLAVE:** Pérdidas endógenas, Nitrógeno endógeno, Aminoácidos endógenos, Cerdos.

### **ABSTRACT**

In the present study the origins of nitrogen and amino acids endogenous losses are reviewed and also their use for estimating standardized digestibility coefficients. Besides, factors able to modulate the amount and composition of endogenous losses are analyzed. Also, their use in estimating different types of digestibility (apparent, standardized, and true) is explained, and why coefficients of standardized digestibility are those used to formulate pigs' diets.

**KEY WORDS:** Endogenous losses, Endogenous nitrogen, Endogenous amino acids, Pigs.

### **INTRODUCCIÓN**

Para poder determinar si un componente alimenticio, como la proteína cruda o nitrógeno (N), es aprovechado adecuadamente por los animales, se realizan estudios de digestibilidad ileal, que es el valor que se calcula por medio de la diferencia entre la cantidad de N o proteína ingerida y la cantidad de N o proteína excretada en el

### **INTRODUCTION**

To determine if a feed component, crude protein or nitrogen (N) is used adequately by animals, ileal digestibility studies are performed, which is quantified through differences between N or crude protein intake and the amount excreted in the ileal content<sup>(1)</sup>. This quantification only estimates apparent absorption, because not all excreted N is

---

Recibido el 9 de septiembre de 2008. Aceptado para su publicación el 25 de mayo de 2009.

<sup>a</sup> Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Fisiología Animal, INIFAP. Ajuchitlán, Querétaro. C.P. 76280 México. e-mail: mariscal.gerardo@inifap.gob.mx. Correspondencia al primer autor.

<sup>b</sup> Facultad de Ciencias Naturales U.A.Q. Juriquilla Querétaro.

<sup>c</sup> Dirección actual: Euro-Nutec Premix S.A. de C.V.

contenido ileal<sup>(1)</sup>. Esta cuantificación sólo estima la absorción aparente, pues no todo el N excretado es de origen alimenticio, ya que el contenido ileal está conformado por una mezcla compuesta por el N proveniente de la dieta y por el N de origen endógeno. Cuando se hace la corrección de dicho N, se puede estimar su digestibilidad verdadera<sup>(2,3)</sup>.

El N endógeno corresponde a los aminoácidos (AA) y a las proteínas provenientes del animal que están presentes en las secreciones digestivas (saliva, jugo gástrico, jugo pancreático, bilis, mucinas), y que no fueron reabsorbidas durante su trayecto por el tracto gastrointestinal superior. También el N y los AA aportados por las células intestinales descamadas, por pelos ingeridos y por la flora microbiana del intestino delgado se consideran como pérdidas endógenas<sup>(4)</sup>. Esta fracción de N al pasar al intestino grueso puede ser metabolizada por los microorganismos locales o ser excretada en las heces. Las pérdidas endógenas se pueden clasificar en dos categorías: pérdidas basales que son dependientes de los animales, y pérdidas específicas, las cuales están asociadas a los alimentos. La suma de las pérdidas basales y específicas constituyen las pérdidas totales de N<sup>(5)</sup>.

El interés por caracterizar las pérdidas de N endógeno estriba en que éstas impactan la economía de N de los animales, ya que estos utilizan los aminoácidos para la síntesis de proteína “lábil”, como son las proteínas de secreción del aparato digestivo, en lugar de utilizarlos para la deposición de proteína corporal<sup>(6)</sup>. Adicionalmente, es necesario conocer el perfil de la proteína endógena en términos de su composición en AA. Lo anterior tiene como objetivo corregir los coeficientes de digestibilidad aparente de los AA, y generar los coeficientes de digestibilidad estandarizada, los cuales son reportados en las tablas de composición de alimentos<sup>(7-11)</sup> y son los coeficientes empleados para formular los alimentos para cerdos.

## SECRECIONES DIGESTIVAS

El aparato digestivo tiene una alta actividad secretora. Las secreciones digestivas desempeñan un papel esencial dentro de los procesos que se

of feed origin, as ileal content is made up by a mix of both dietary and endogenous N. When this N content is taken into account, true N digestibility can be estimated<sup>(2,3)</sup>.

Endogenous N comes from amino acids (AA) and proteins from the animal present in digestive secretions (saliva, gastric and pancreatic juices, bile, mucin) which were not reabsorbed in the upper gastrointestinal tract. Also, N and AA contributed by desquamated cells of the intestine, by ingested hairs and small intestine microbial flora are considered as endogenous losses<sup>(4)</sup>. This N fraction when passing into the large intestine can be metabolized by local microbes or excreted through feces. Endogenous losses can be classified in two categories: basal, which depend on animals and specific, which are associated to feedstuffs. The sum of basal and specific losses amount to total N losses<sup>(5)</sup>.

Interest on characterizing endogenous N losses lies on their impact on the N economy of animals, because these use amino acids to synthesize “labile” proteins, such as those secreted by the digestive tract, instead of using them for deposition of body proteins<sup>(6)</sup>. In addition, it is deemed necessary to know the profile of endogenous proteins in terms of their amino acid composition. This has the objective of correcting AA apparent digestibility and generating standardized digestibility coefficients, which are published in feed composition tables<sup>(7-11)</sup>, which are the coefficients used for formulating pig’s diets.

## DIGESTIVE SECRETIONS

The digestive tract displays a high secretory activity. Digestive secretions perform an essential role in processes which take place along the digestive tract and have multiple functions: protect organs (mucus, saliva), allow digestion of ingredients (enzymes), buffer pH (saliva, pancreatic juice) and assist fat digestion (bile)<sup>(12)</sup>, therefore digestive secretions are synthesized and released in answer to the presence of feedstuffs, varying their composition with the type of ingredients supplied in diets<sup>(13)</sup>. Digestive secretions are produced by salivary

llevan a cabo a lo largo del tracto gastrointestinal y tienen múltiples funciones: proteger los órganos (moco, saliva), permitir la digestión de los ingredientes (enzimas), amortiguar el pH (saliva, jugo pancreático) y facilitar la digestión de grasa (jugo biliar)<sup>(12)</sup>; por lo que las secreciones digestivas son sintetizadas y liberadas como respuesta a la presencia de alimento, ocasionando que su composición varíe de acuerdo con el tipo de ingredientes que se estén suministrando en la dieta<sup>(13)</sup>. Las secreciones digestivas provienen de las glándulas salivales, estómago, páncreas e intestino (incluyendo moco y células descamadas); además de la proteína de origen microbiana presente principalmente en el intestino grueso. La cantidad de N presente en las diferentes secreciones del TGI puede variar y su reabsorción puede llegar hasta un 90 % (70 a 90 % en el íleon terminal, Figura 1).

**Secreción salival.** Su volumen está modulado por la cantidad de alimento consumido y por su contenido de agua<sup>(14,15)</sup>. Contiene glucoproteínas (mucinas), la enzima “ptialina” (a amilasa), aminoácidos libres, urea, ácido úrico, creatinina y trazas de proteínas séricas<sup>(16)</sup>. La secreción diaria de nitrógeno en la saliva ha sido estimada entre 400 y 600 mg de N·día<sup>-1</sup> en un cerdo de 30 a 40 kg de peso<sup>(15,16)</sup>.

**Secreción gástrica.** La secreción gástrica está compuesta de enzimas (pepsinógeno, proquimosina), de glucoproteínas, péptidos, aminoácidos, urea y amoniaco<sup>(16)</sup>. En el estómago la secreción de nitrógeno endógeno en cerdos de 35 kg de peso<sup>(17)</sup> ha sido estimada entre 2.44 y 3.34 g de N·día<sup>-1</sup> en animales que consumieron una ración semipurificada de AA y almidón de trigo o de trigo y en 1.75 g·día<sup>-1</sup> en lechones de 3.7 kg de peso que consumían leche reconstituida<sup>(18)</sup>.

**Bilis.** La bilis es una secreción esencial para la digestión y absorción de los lípidos en el intestino delgado. Las sales biliares son sintetizadas en el hígado a partir del colesterol y en este mismo sitio son conjugadas con los aminoácidos taurina y glicina<sup>(19)</sup>. La secreción de N en bilis se ha estimado entre 1.7 y 3.0 g·día<sup>-1</sup><sup>(15,20,21)</sup>.

glands, stomach, pancreas and intestine (including mucus and desquamated cells) and proteins due to microbes present in the large intestine. The amounts of N present in different secretions of the gastro intestinal tract can fluctuate and reabsorption can be as high as 90 % (70 to 90 % in ileum, Figure 1).

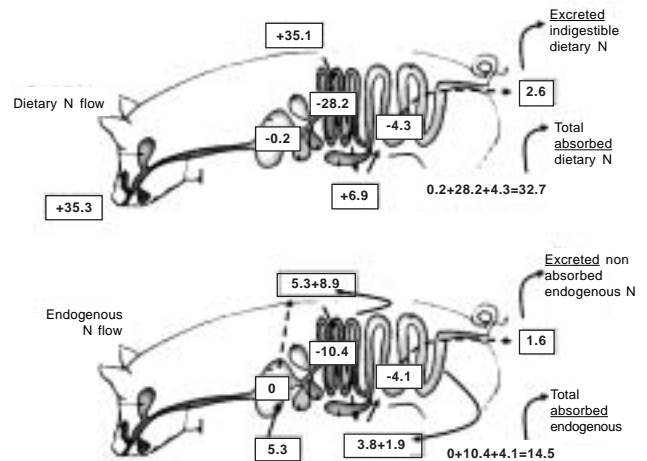
**Salivary secretion:** its volume is regulated by the amount of feed intake and water content<sup>(14,15)</sup>. Saliva contains glycoproteins (mucins), ptyalin (á amylase enzyme), free amino acids, urea, uric acid, creatinine and traces of serum proteins<sup>(16)</sup>. Daily N secretion through saliva has been estimated at 400 to 600 mg for 30 to 40 kg pigs<sup>(15,16)</sup>.

**Gastric secretion:** gastric secretions are made up by enzymes (pepsinogen, prochymosin), glycoproteins, peptides, amino acids, urea and ammonia<sup>(16)</sup>. For 35 kg pigs endogenous N secretion in the stomach has been estimated between 2.44 and 3.34 g d<sup>-1</sup> in animals fed a semi purified diet containing AA and wheat starch or wheat and of 1.75 g d<sup>-1</sup> in 3.7 kg piglets fed reconstituted milk<sup>(18)</sup>.

**Bile:** bile is a secretion essential for digestion and absorption of lipids in the small intestine. Bile

Figura 1. Flujo, secreción y absorción de N en g·d<sup>-1</sup> en las diferentes secciones del tracto digestivo de cerdos de 30 kg de peso. Adaptada de Fuller<sup>(4)</sup>

Figure 1. N flow, secretion and absorption expressed in g·d<sup>-1</sup> in different sections of the digestive tract in 30 kg pigs. Adapted from Fuller<sup>(4)</sup>



**Secreción pancreática.** La secreción exócrina del páncreas está compuesta de proenzimas (tripsinógeno, quimotripsinógeno, procarboxipeptidasa A y B, proelastasa, amilasa, lipasa, colipasa), y de nitrógeno no proteico (40 % del total) compuesto de urea, aminos y azúcares aminados<sup>(15,22)</sup>. Esta secreción puede representar del 13 al 27 % del nitrógeno endógeno total<sup>(23)</sup>. La cantidad de N secretada por el páncreas ha sido estimada entre 1.4 y 4 g·día<sup>-1</sup><sup>(17,20,21,24-26)</sup>.

**Secreción intestinal.** La cantidad de N secretada por el intestino delgado ha sido estimada entre 10 y 27 g·día<sup>-1</sup> y es mayor en el duodeno que en el íleon (0.97 y 0.48 g·m<sup>-1</sup>·día<sup>-1</sup> respectivamente)<sup>(27)</sup>. El N aportado al lumen intestinal proviene principalmente de muco proteínas y de las células descamadas.

**Moco.** El moco es una secreción densa que se encuentra compuesta principalmente por agua, electrólitos y mucina<sup>(28)</sup>. La mucina es el mayor componente del moco que cubre la superficie del aparato respiratorio, digestivo y tracto genitourinario<sup>(29)</sup>. En el aparato digestivo el moco protege al epitelio de la excoiación, daño químico e infecciones<sup>(29,30)</sup>. La mucina es una glucoproteína pobremente digerida antes de llegar al intestino grueso<sup>(30)</sup>. Está compuesta de un 10 a 20 % de proteína, rica en los aminoácidos treonina, prolina y serina; y el resto (80 a 90 %) se conforma de oligosacáridos, principalmente compuestos por N-acetilglucosamina y N-acetilgalactosamina<sup>(28)</sup>. El requerimiento de treonina es mayor en los animales alimentados vía enteral, ya que el moco se renueva constantemente, lo que implica una secreción permanente de mucina<sup>(31)</sup>. Cuando hay proteólisis o abrasión a nivel luminal se incrementa la secreción de mucina; es así que los componentes de la dieta como los factores antinutricionales y la fibra interactúan con la mucosa estimulando su secreción. Proteínas altamente digestibles como las proteínas lácteas no tienen este efecto. En becerros prerumiantes la mucina representa el 19 % de las pérdidas de proteína a nivel ileal<sup>(30)</sup>. La concentración de mucina se incrementa en las diferentes partes del intestino delgado; por ejemplo la cantidad de mucina que se secreta en forma

salts are synthesized in the liver from cholesterol and mixed at the same site with the amino acids taurine and glycine. N secretion in bile has been estimated between 1.7 and 3.0 g d<sup>-1</sup><sup>(15,20,21)</sup>.

**Pancreatic secretion:** exocrine pancreatic secretion is made up by proenzymes (trypsinogen, chymotrypsinogen, procarboxypeptidase A and B, proelastase, amylase, lipase and colipase) and non protein N (40 % of total) which includes urea compounds, amines and amino sugars<sup>(15,22)</sup>. This secretion can represent between 13 and 27 % of total endogenous N<sup>(23)</sup>. The N amount secreted by pancreas has been estimated between 1 and 4 g d<sup>-1</sup>.

**Intestinal secretion:** the N amount secreted by the small intestine has been estimated between 10 and 27 g d<sup>-1</sup> and is greater in duodenum than in ileum (0.97 and 0.48 g d<sup>-1</sup>, respectively)<sup>(27)</sup>. N contributed to intestinal lumen comes mainly from mucoproteins and desquamated cells.

**Mucus:** mucus is a dense secretion composed mainly by electrolytes, water and mucin<sup>(28)</sup>. Mucin is the most important component in mucus that lines the respiratory, digestive and the urogenital tract<sup>(29)</sup>. In the digestive apparatus mucus protects epithelium from excoriation, chemical damage and infections<sup>(29,30)</sup>. Mucin is a glycoprotein poorly digested before reaching the large intestine<sup>(30)</sup>. It consists of 10 to 20 % protein, rich in the amino acids threonine, proline and serine and the remaining 80 to 90 % is made up by oligosaccharides, mainly N-acetylglucosamine and N-acetylgalactosamine<sup>(28)</sup>. Threonine requirements are higher in enteral fed animals, as mucus is constantly renewed, implying a permanent mucin secretion<sup>(31)</sup>. When proteolysis or luminal abrasion is present, mucin secretion increases. Therefore certain diet components, as antinutritional factors and fiber interact with the mucosa stimulating mucin secretion. Highly digestible proteins, as lactic proteins, do not produce this effect. In preruminant calves mucin represents 19 % of protein loss in ileum<sup>(30)</sup>. Mucin concentration increases along the small intestine, for example, the amount secreted basally in calves is 1.06, 1.8 and 4.0 g kg<sup>-1</sup> of dry matter intake for duodenum, jejunum and ileum, respectively<sup>(30)</sup>.

basal en becerros es de 1.06, 1.8 y 4.0 g·kg<sup>-1</sup> de materia seca consumida para duodeno, yeyuno e íleon respectivamente<sup>(30)</sup>.

*Células descamadas.* Otra fuente de N endógeno son las células epiteliales del intestino delgado que se descaman. Los enterocitos migran de las criptas a la punta de las vellosidades; durante esta migración adquieren la estructura y funcionalidad del enterocito maduro, que es la célula responsable de realizar las funciones de absorción. La maduración del enterocito es un proceso que dura de tres a cuatro días<sup>(32)</sup>. Ya estando en la punta de la vellosidad, su vida promedio es de 2 a 5 días, lo que puede variar según la especie y el tipo de alimento, entonces sufren apoptosis y se desprenden hacia la luz intestinal<sup>(12)</sup>. Debido a la dificultad de su determinación no se ha reportado en la literatura la cantidad de N proveniente de esta fuente.

*Contenido del intestino grueso.* Zebrowska<sup>(33)</sup> estimó entre 2 y 15 g de N·día<sup>-1</sup> la cantidad de N que llega al intestino grueso (IG) proveniente del intestino delgado. A esa cantidad se ha estimado que el IG aporta entre 1.9 y 3 g·día<sup>-1</sup><sup>(34, 35)</sup>. Al menos 20 % de la fracción detergente neutro (FDN) de la fibra que se incluye en la dieta, desaparece antes de íleon terminal en cerdos de 10 semanas de edad, lo que indica la presencia de bacterias<sup>(36)</sup>. Estas bacterias, aportan N no dietario<sup>(32)</sup>; para determinar la cantidad de N aportado por las bacterias se cuantifica el ácido diaminopimélico (DAPA), el cual se caracteriza por ser un componente de las paredes celulares de las bacterias y que está presente en una proporción constante, lo que permite usarlo como indicador indirecto de la proteína microbiana<sup>(37-39)</sup>.

## MÉTODOS PARA ESTIMAR LAS PÉRDIDAS ENDÓGENAS

Existen diferentes métodos para cuantificar las pérdidas endógenas a nivel ileal, en los cuales generalmente se utilizan animales canulados para tener acceso a la digesta.

*Dieta libre de nitrógeno.* Este es el método más utilizado pues es de fácil manejo. El animal consume

*Desquamated cells:* another source of endogenous N is desquamated small intestine epithelial cells. Enterocytes migrate from crypts to the top of villi and during this process they acquire the structure and functionality of mature enterocytes, which are the cells responsible for absorption. This maturing process lasts between 3 and 4 d<sup>(32)</sup>, and once at the top of villi they live for 2 to 5 d, depending on the specie and type of feedstuff, then they suffer apoptosis and fall into the intestine lumen<sup>(12)</sup>. Owing to difficulties for determining N, no amounts from this source are reported in literature.

*Large intestine content:* Zebrowska<sup>(33)</sup> reports between 5 and 18 g d<sup>-1</sup> the amount of N entering the large intestine from the small intestine. To that amount it is estimated that the large intestine contributes daily between 1.9 and 3 g<sup>(34,35)</sup>. At least 20 % of the neutral detergent fiber fraction included in diets disappears before reaching the end of the ileum in 10 weeks old pigs, which is a sign of presence of bacteria<sup>(36)</sup>. These bacteria contribute non diet N<sup>(32)</sup>, and to determine bacteria N contribution, DAPA (Diaminopimelic acid), which is a component of bacteria cell walls found in constant proportion, is quantified and then used as an indirect indicator of microbial protein<sup>(37-39)</sup>.

## METHODS FOR DETERMINING ENDOGENOUS LOSSES

Different methods can be used for quantifying ileal endogenous losses, most of them using cannulated animals to collect digesta.

*Nitrogen free diets:* this is the method most commonly used for its simplicity. Animals are fed nitrogen free diets for several days and then N flow is measured at the ileum, thus obtaining endogenous losses<sup>(40-42)</sup>. However, estimated losses through this method do not reflect normal physiological circumstances, because secretion level is altered and therefore endogenous losses too<sup>(43)</sup>.

*Use of highly digestible N or protein source:* casein, maize gluten and crystalline amino acids<sup>(44,45)</sup> do not stimulate digestive secretions and have high true digestibility (99 % on average), therefore being

una dieta sin nitrógeno por varios días y se mide el flujo de N en el íleon, obteniendo como resultado las pérdidas endógenas<sup>(40-42)</sup>. Sin embargo, las pérdidas estimadas por este método no reflejan situaciones fisiológicas normales, lo que altera el nivel de las secreciones y por lo tanto de las pérdidas endógenas<sup>(43)</sup>.

*Empleo de una fuente de proteína o nitrógeno altamente digestible.* La caseína, el gluten de maíz y los aminoácidos cristalinos<sup>(44,45)</sup> son alimentos que no estimulan las secreciones digestivas y tienen una alta digestibilidad verdadera (99 %, en promedio), siendo por lo tanto absorbidos en su totalidad, por lo que se considera que el N presente en la digesta ileal es de origen endógeno<sup>(45)</sup>.

*Método de regresión.* Con este método se mide el flujo ileal del N en animales alimentados con niveles crecientes de N y con base en el flujo ileal de N se calcula el flujo basal por extrapolación a una ingestión nula de N<sup>(41,42,46)</sup>.

*Marcaje con el isótopo pesado del nitrógeno (<sup>15</sup>N).* El <sup>15</sup>N es un isótopo estable, en este método se mide su dilución a nivel ileal, para lo cual se marca el N dietario o el N endógeno, y así puede diferenciar uno de otro<sup>(3,40,41,47)</sup>.

*Uso de homoarginina.* Este método consiste en convertir la lisina dietaria en homoarginina, la cual no es incorporada dentro de las secreciones endógenas. El proceso de "guanidación" no altera la digestión y absorción de la proteína. Su limitante es que se determina únicamente el flujo de lisina, por lo que el flujo de los otros aminoácidos se tiene que calcular a partir de la composición de la proteína endógena<sup>(48)</sup>.

## CLASIFICACIÓN DE LAS PÉRDIDAS ENDÓGENAS

*Pérdidas basales de N.* Estas son naturales e inevitables, pues están asociadas al proceso digestivo al que es sometido el alimento consumido<sup>(49,50)</sup>. Principalmente estas pérdidas se han determinado principalmente en cerdos en crecimiento<sup>(51,52)</sup> empleando los métodos mencionados anteriormente.

totally absorbed and N present in materials resulting from digestion in ileum can be considered as endogenous<sup>(45)</sup>.

*Regression method:* through this method ileal N flow can be measured in animals fed with increasing N levels and based on it, basal N flow can be estimated by extrapolating a null N intake<sup>(41,42,46)</sup>.

*<sup>15</sup>N markers:* <sup>15</sup>N is a stable isotope and can be used to measure its dilution at the ileum when used as a marker in diet or endogenous N, thus differentiating one from the other<sup>(3,40,41,47)</sup>.

*Use of homoarginine:* this method consists of conversion of diet lysine in homoarginine, which is not incorporated into endogenous secretions. This guanidination process does not alter digestion and absorption of the protein. The main constraint to this method is that only lysine flow is determined and the flow of other amino acids should be estimated taking into account the amino acid composition of the endogenous protein<sup>(48)</sup>.

## ENDOGENOUS LOSS CLASSIFICATION

*Basal N losses:* these are inevitable and normal, being associated to the digestive process of different feed ingredients<sup>(49,50)</sup>. These losses have been graded mainly in growing pigs<sup>(51,52)</sup> by means of the methods previously mentioned. Evaluations of endogenous losses in pregnant and lactating sows are also available<sup>(53)</sup>, and lately for newly weaned piglets too<sup>(54,55)</sup>.

On average basal N loss for dry matter intake (DMI) adds up to  $1.69 \pm 0.49$  g kgDM<sup>-1</sup>. Proline, glycine, aspartic acid, serine and threonine are the amino acids more commonly found in greater amounts, while methionine, tryptophan and cystine are found in lower concentrations<sup>(45)</sup>. Proline, glycine, aspartic acid, glutamic acid and serine represent more than half of amino N in basal losses. Threonine is the essential amino acid found in greater concentrations in basal losses, contributing around 6 % of amino N<sup>(42)</sup>.

*Specific losses:* these losses are responses of the gastrointestinal tract to alimentation factors that

También existen determinaciones en cerdas gestantes y lactantes<sup>(53)</sup> y últimamente se ha reportado en lechones recién destetados<sup>(54,55)</sup>.

En promedio la pérdida basal de N por kg de materia seca consumida (MSC) es de  $1.69 \pm 0.49$  g. Prolina, glicina, ácido glutámico, ácido aspártico, serina y treonina son los aminoácidos presentes en mayor cantidad<sup>(45)</sup>; metionina, triptófano y cistina son los aminoácidos presentes en menor concentración<sup>(45)</sup>. La prolina, glicina, ácido glutámico, ácido aspártico y serina representan más del 50 % del N amino de las pérdidas basales. La treonina es el aminoácido esencial de mayor concentración en las pérdidas basales, contribuyendo con alrededor del 6 % del N amino<sup>(42)</sup>.

*Pérdidas específicas.* Son las pérdidas que se generan como respuesta del tracto gastrointestinal a los factores alimenticios que modifican sus secreciones y su reabsorción, así como la descamación celular<sup>(5)</sup>. La fuente de proteína, el contenido y el tipo de fibra, y la presencia de factores antinutricionales en el alimento son factores que modifican las secreciones digestivas.

### FUENTES DE VARIACIÓN DE LAS PÉRDIDAS ENDÓGENAS

*Proteína dietaria.* Las proteínas de la dieta al ser más o menos digestibles modulan la secreción enzimática. Por ejemplo, se reporta<sup>(56)</sup> que el efecto detrimental de los taninos sobre la digestibilidad de la proteína no fue claro cuando se estudiaron sorgos con bajos contenidos de taninos (< 1.0 %). La variación en la digestibilidad de la proteína de ese tipo de sorgos estuvo relacionada con su perfil de proteínas, ya que los sorgos con mayor proporción de proteínas de reserva (kafirinas y glutelinas) tuvieron una menor digestibilidad ileal de su proteína. Esto se asoció a una mayor secreción de tripsina; ya que la secreción de las enzimas digestivas responde a la cantidad y tipo de sustrato<sup>(57)</sup>. Jondreville *et al*<sup>(58)</sup> reportaron un resultado similar, ya que el sorgo provocó una mayor pérdida de proteína endógena que el maíz, trigo, cebada, centeno y triticale. Efectos similares de proteínas poco digestibles han sido mencionados en leguminosas<sup>(59,60)</sup>.

modify its secretions and reabsorption as well as cell desquamation<sup>(5)</sup>. Protein source, fiber content and type and the presence of antinutritional factors in feeds are found among the factors that modify digestive secretions.

### VARIATION SOURCES FOR ENDOGENOUS LOSSES

*Dietary protein:* Digestibility of proteins in diets modulates enzymatic secretion. For example, the detrimental effect of tannins on protein digestibility was not so clear when low tannin content sorghums (< 1 %) were studied. Digestibility variation of proteins in this type of sorghums is related to protein profile, as sorghums containing a greater proportion of storage proteins (kafirins and glutelins) showed a lower ileal protein digestibility. This can be associated to a greater trypsin secretion, because secretion of digestive enzymes responds to the amount and type of substrate<sup>(57)</sup>. Jondreville *et al*<sup>(58)</sup> report similar results, since sorghum produced a greater loss of endogenous protein than either maize, wheat, barley, rye or triticale. Similar effects of poorly digestible proteins have been reported in legumes<sup>(59)</sup>.

*Fiber:* greater NDF content in feedstuffs increases endogenous N loss<sup>(42,61,62)</sup> diminishing apparent amino acid ileal digestibility<sup>(62)</sup>, because fiber has an abrasive effect on the walls of intestines, which increases mucin secretion and cell desquamation<sup>(36)</sup>. Soluble fiber increases digesta viscosity<sup>(63,64)</sup> which has been associated to a decrease in protein ileal digestibility through an obstruction of digestive enzymes actions and impeding reabsorption<sup>(65,66)</sup>.

*Antinutritional factors:* tannins increase endogenous N loss due mainly to secretion in saliva of an acid protein rich in proline (PRP)<sup>(67)</sup>, which contains 40 % proline and 20 % glycine and constitutes the first line of defense against the presence of tannins in feedstuffs<sup>(68)</sup>. Secretion of PRP is stimulated because tannins are able to precipitate proteins showing a special preference to bind to proline<sup>(69,70)</sup>. That is why they represent a potential danger for digestive enzyme activity at the intestinal lumen because they can inhibit trypsin<sup>(71-73)</sup>,

*Fibra.* El contenido de FDN del alimento incrementa la pérdida de N endógeno<sup>(42,61,62)</sup>, disminuyendo la digestibilidad ileal aparente de los aminoácidos<sup>(62)</sup>, ya que tiene un efecto abrasivo sobre la pared intestinal lo que incrementa la secreción de mucinas y la descamación celular<sup>(36)</sup>. La fibra soluble aumenta la viscosidad de la digesta<sup>(63,64)</sup>, lo cual ha sido asociado con la disminución de la digestibilidad ileal de la proteína al obstruir la acción de las enzimas digestivas y obstaculizar su reabsorción<sup>(65,66)</sup>.

*Factores antinutricionales.* Los taninos aumentan la pérdida endógena de N debido principalmente a la secreción en saliva de una proteína ácida rica en prolina (PRP)<sup>(67)</sup>, la cual contiene 40 % de prolina y 20 % de glicina y sirve como la primera línea de defensa ante la presencia de taninos en la dieta<sup>(68)</sup>. La secreción de la proteína PRP es provocada porque los taninos son capaces de precipitar proteínas mostrando una particular preferencia por unirse al aminoácido prolina<sup>(69,70)</sup>. Por eso representan un riesgo potencial para la actividad de las enzimas digestivas a nivel del lumen intestinal ya que son capaces de inhibir la actividad enzimática de tripsina<sup>(71-73)</sup>, amilasa<sup>(71,72)</sup> y lipasa<sup>(71)</sup>. Los inhibidores de proteasas se unen de manera irreversible a la tripsina y quimotripsina inactivándolas. Debido a la disminución en su actividad, se incrementa la secreción de tripsina y quimotripsina y por lo tanto las pérdidas endógenas<sup>(2)</sup>. La recuperación de aminoácidos, en íleon distal de lechones alimentados con dietas con soya procesada es más baja (4 g·kg<sup>-1</sup> de MSC) que en dietas con soya no procesada (28.8 g·kg<sup>-1</sup> de MSC), lo que sugiere que los factores antitripsicos de la soya formaron complejos con las enzimas digestivas, incrementando la pérdida de N endógeno<sup>(74)</sup>.

## EL PERFIL DE LA PROTEÍNA ENDÓGENA

Para ilustrar la importancia de la composición de la dieta sobre el perfil de aminoácidos de la proteína endógena se realizó un análisis factorial de correspondencias (AFC) empleando el procedimiento CORRESP de SAS<sup>(75)</sup>. En el análisis se compararon 58 perfiles de proteínas endógenas publicados en

amylase<sup>(71,72)</sup> and lipase<sup>(71)</sup> enzymatic activity. Protease inhibitors bind themselves irreversibly to trypsin and chymotrypsin rendering them inactive. Due to a decrease in their activity, trypsin and chymotrypsin secretion increases and therefore endogenous losses too<sup>(2)</sup>. Amino acid recuperation in the distal ileum of piglets fed processed soybeans is lower (4 g kg<sup>-1</sup> DMI) than for diets of non processed soybeans (28.8 g kg<sup>-1</sup>DMI), which suggests that antitrypsic factors in soybeans formed some kind of complex compounds with the digestive enzymes, increasing loss of endogenous N<sup>(74)</sup>.

## ENDOGENOUS PROTEIN PROFILE

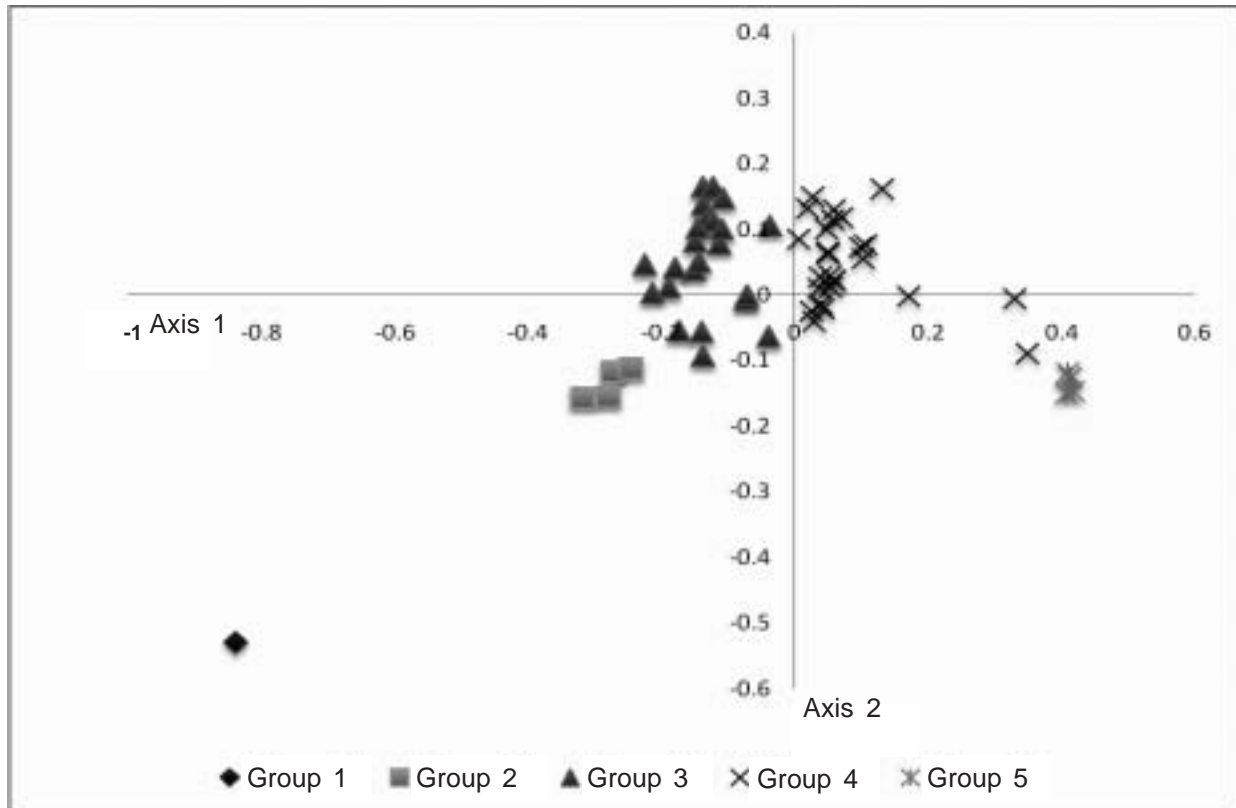
To show the importance of diet composition on amino acid profile of the endogenous protein a correspondence factorial analysis (CFA) was carried out through the SAS CORRESP<sup>(75)</sup> procedure. In this analysis 58 endogenous protein profiles published in 19 scientific papers which reported every amino acid except tryptophan<sup>(40,42,44,54,74,76-88)</sup> were compared. For comparison between endogenous protein profiles the amino acid proline was not included because its proportion in digesta is affected by the method used to determine endogenous losses<sup>(45,52,81)</sup>. The main characteristics of CFA are: a) as amino acid profiles are closer between observations, its nearness is greater inside the quadrant; b) proximity of projection points of a given amino acid and an individual observation (digesta), indicate that that observation is characterized by a high content of the amino acid in question.

In addition, a cluster analysis was performed using the maximum likelihood hierarchical clustering (EML) by means of the SAS CLUSTER procedure<sup>(75)</sup>. This analysis allowed to group endogenous proteins in five groups in accordance with their amino acid profile. As shown in Figure 2, FCA allowed placing all the endogenous profiles relative to the first two axes, which explained 66.4 % of total variation. This analysis shows the influence of diet on endogenous protein profiles, as endogenous proteins obtained from diets containing crystalline amino acids or casein (groups 1, 2 and 3) can be seen to the left of the first axis.



Figura 2. Proyección gráfica, de las proteínas endógenas, obtenida del análisis factorial de correspondencias, donde se muestra como se agrupan las proteínas endógenas en función de su perfil de aminoácidos, el cual está asociado al tipo de dieta empleada en su determinación

Figure 2. Graphic projection of endogenous proteins obtained through correspondence factorial analysis, where it is shown how endogenous proteins are grouped in accordance with their amino acid profile, which is linked to the type of diet used for determining them



Endogenous proteins obtained from diets containing crystalline amino acids or casein (groups 1, 2 and 3) are placed to the left of axis 1. These three groups presented similar profiles, the first characterized for being rich in glutamic acid and this protein was obtained from pigs fed a diet using crystalline amino acids<sup>(44)</sup>. The second group is made up by endogenous proteins obtained from pigs fed diets formulated with casein or hydrolyzed casein<sup>(44,81,82,87)</sup>, this group showed a profile less rich in glutamic acid than the first and a lower arginine content than the third. The third group is constituted by endogenous proteins obtained from diets containing casein<sup>(54,78)</sup>, hydrolyzed casein<sup>(77,80,82)</sup> or highly digestible proteins, such as egg<sup>(83)</sup> and hydrolyzed pea protein<sup>(79)</sup> and an endogenous protein obtained from a protein free diet<sup>(84)</sup>. This group is characterized by richness in arginine.

To the right of axis 1 endogenous obtained from N free diets are localized<sup>(40,42,44,77,79,80,83-86,88)</sup>, an endogenous protein obtained from pigs fed meat and bone meal<sup>(77)</sup>, an endogenous protein obtained from pigs fed a protein obtained from peas<sup>(83)</sup> and two endogenous proteins obtained from soybean fed pigs<sup>(74,76)</sup>, which contained lower proportions of glutamic acid and arginine. This can be due to the fact that when the proportion of glutamic acid increases in the endogenous protein, proline concentration decreases and vice versa<sup>(52)</sup>. Because this group is composed mainly by proteins obtained from pigs fed protein free diets, a practice that increases proline losses, these proteins contained a lower proportion of glutamic acid in consequence<sup>(42,81)</sup>. The endogenous proteins determined using soybeans are the points in group 4 nearer to group 5<sup>(74,76)</sup>. Group 5 was obtained using diets made from soybean meal supplemented with protease<sup>(76)</sup> and cystine rich proteins, which is the amino acid that characterizes this quadrant. Proteases are rich in cystine.

19 artículos científicos<sup>(40,42,44,54,74,76-88)</sup>, los cuales reportaban a todos los aminoácidos exceptuando el triptófano. Para realizar la comparación entre los perfiles de las proteínas endógenas no se incluyó

These three groups presented similar profiles, the first characterized for being rich in glutamic acid and this protein was obtained from pigs fed a diet using crystalline amino acids<sup>(44)</sup>. The second group

el aminoácido prolina, ya que su proporción en la digesta es afectada por el método empleado para determinar las pérdidas endógenas<sup>(45,52,81)</sup>. Las características principales del análisis factorial de correspondencias son: a) conforme el perfil de aminoácidos se asemeja más entre las observaciones, su cercanía es mayor en el cuadrante, b) la proximidad de los puntos de proyección de un aminoácido y de una observación (digesta) individual, indican que dicha observación se caracteriza por su riqueza en ese aminoácido.

Adicionalmente se realizó un análisis de agrupamiento (Clusters) utilizando el criterio de máxima semejanza jerárquica (EML por sus siglas en inglés), empleando el procedimiento Cluster de SAS<sup>(75)</sup>; este análisis permitió agrupar las proteínas endógenas en cinco grupos según su perfil de aminoácidos. Como se muestra en la Figura 2, el AFC permitió localizar todos los perfiles endógenos en relación a los dos primeros ejes, los cuales explicaron el 66.4 % de la variación total. El primer eje explicó el 53.4 % y el segundo el 13.0 % del total de la variación. El análisis muestra la influencia de la dieta en el perfil de la proteína endógena, ya que en la gráfica se observa que a la izquierda del primer eje se localizaron las proteínas endógenas obtenidas empleando dietas a base de aminoácidos cristalinos o caseína (grupos 1, 2 y 3). Estos tres grupos tuvieron perfiles similares, diferenciándose en que el primero se caracterizó por su riqueza en ácido glutámico, esa proteína endógena se obtuvo de cerdos alimentados con una dieta elaborada usando aminoácidos cristalinos<sup>(44)</sup>. El segundo grupo se constituyó con proteínas endógenas obtenidas de cerdos alimentados con dietas elaboradas con caseína o caseína hidrolizada<sup>(44,81,82,87)</sup>; ese grupo tuvo un perfil menos rico en ácido glutámico que el primer grupo y un menor contenido de arginina que el tercer grupo. El tercer grupo se conformó con proteínas endógenas obtenidas usando caseína<sup>(54,78)</sup>, caseína hidrolizada<sup>(77,80,82)</sup> o proteínas altamente digestibles como el huevo<sup>(83)</sup>, y el hidrolizado de proteína de chícharo<sup>(79)</sup>, y una proteína endógena obtenida con una dieta libre de proteína<sup>(84)</sup>. Este grupo se caracterizó por su riqueza en el aminoácido arginina.

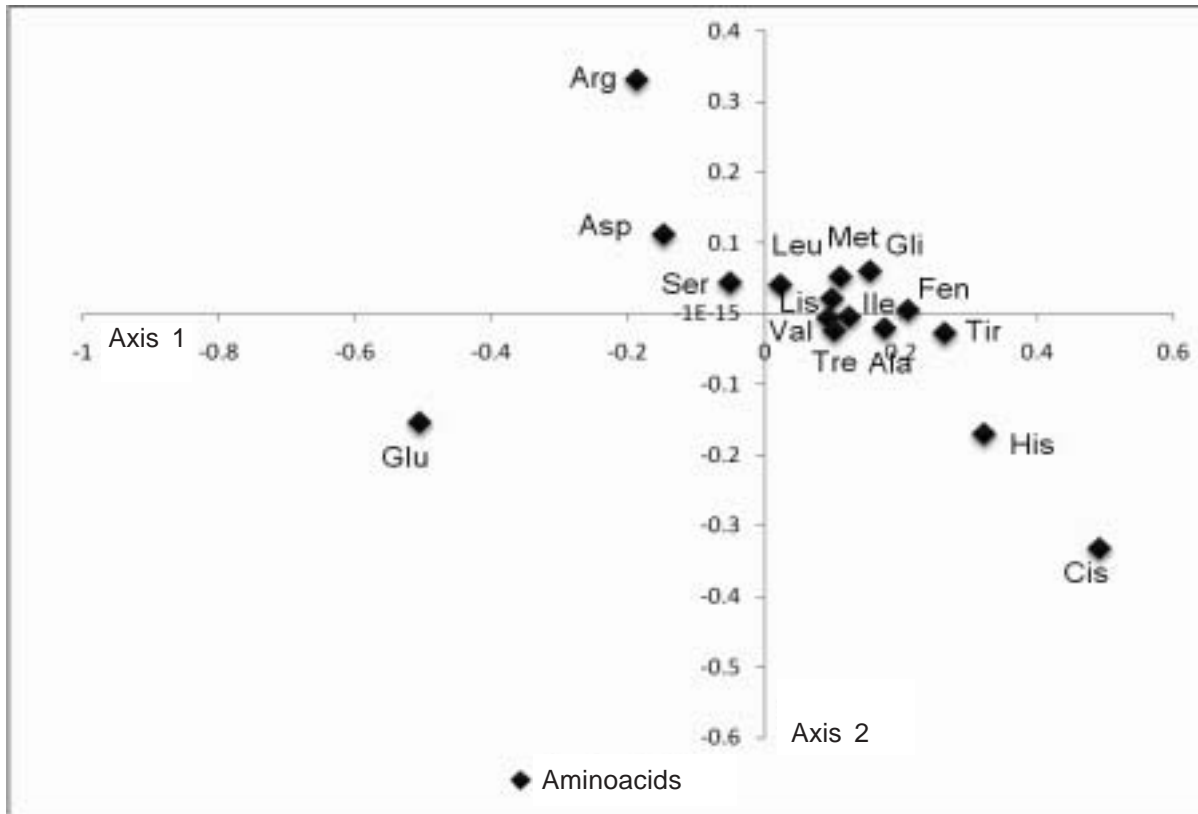
is made up by endogenous proteins obtained from pigs fed diets formulated with casein or hydrolyzed casein<sup>(44,81,82,87)</sup>, this group showed a profile less rich in glutamic acid than the first and a lower arginine content than the third. The third group is constituted by endogenous proteins obtained from diets containing casein<sup>(54,78)</sup>, hydrolyzed casein<sup>(77,80,82)</sup> or highly digestible proteins, such as egg<sup>(83)</sup> and hydrolyzed pea protein<sup>(79)</sup> and an endogenous protein obtained from a protein free diet<sup>(84)</sup>. This group is characterized by richness in arginine.

To the right of axis 1 endogenous obtained from N free diets are localized<sup>(40,42,44,77,79,80,83-86,88)</sup>, an endogenous protein obtained from pigs fed meat and bone meal<sup>(77)</sup>, an endogenous protein obtained from pigs fed a protein obtained from peas<sup>(83)</sup> and two endogenous proteins obtained from soybean fed pigs<sup>(74,76)</sup>, which contained lower proportions of glutamic acid and arginine. This can be due to the fact that when the proportion of glutamic acid increases in the endogenous protein, proline concentration decreases and vice versa<sup>(52)</sup>. Because this group is composed mainly by proteins obtained from pigs fed protein free diets, a practice that increases proline losses, these proteins contained a lower proportion of glutamic acid in consequence<sup>(42,81)</sup>. The endogenous proteins determined using soybeans are the points in group 4 nearer to group 5<sup>(74,76)</sup>. Group 5 was obtained using diets made from soybean meal supplemented with proteases<sup>(76)</sup> and cystine rich proteins, which is the amino acid that characterizes this quadrant.

In Figure 3 spatial localization of amino acids is shown. Relative to axis 1 the amino acids which contribute more to inertia in this axis are glutamic acid with 58.0 % and cystine with 11.4 %, that is to say, these amino acids are the ones that determine to a greater degree endogenous proteins distribution respect of axis 1. The amino acids which contribute to inertia in axis 2 are arginine with 38.5 % and glutamic acid and cystine with 22.1 and 21.3 %, respectively. These amino acids (glutamic acid, arginine and cystine) are those which basically denote differences between digesta groups.

Figura 3. Proyección gráfica de la distribución de los aminoácidos de la proteína endógena, obtenida del análisis factorial de correspondencias

Figure 3. Graphic projection of distribution of amino acids in the endogenous protein, obtained through correspondence factorial analysis



The amino acids which most contribute to the inertia of axis 1 are glutamic acid with 58.0 % and cystine with 11.4 %. The amino acids which contribute most to inertia in axis 2 are arginine with 38.5 % and glutamic acid and cystine with 22.1 and 21.3 %, respectively. Richness in these amino acids is what basically brings about differences between digesta groups.

Del lado derecho del eje 1 se localizaron los endógenos obtenidos empleando una dieta libre de N (grupo 4)(40,42,44,77,79,80,83-86,88), una proteína endógena de cerdos alimentados con harina de carne y hueso<sup>(77)</sup>, una proteína endógena de cerdos alimentados con una proteína aislada de chícharo<sup>(83)</sup> y dos proteínas endógenas de cerdos alimentados con soya<sup>(74,76)</sup>, las cuales contenían una menor proporción de ácido glutámico y de arginina. Esto puede deberse a que cuando aumenta la proporción del ácido glutámico en la proteína endógena, disminuye la concentración de prolina y viceversa<sup>(52)</sup>. Dado que este grupo está conformado

This analysis allowed corroborating that amino acid profiles of endogenous proteins are strongly influenced by the method used for determining them.

### RELATIONSHIP BETWEEN ENDOGENOUS LOSSES AND NITROGEN DIGESTIBILITY

Digestibility is a measure of nutritional value of feedstuffs and can be expressed in different manners depending on the method used for determining it. To estimate nutritional value of the nitrogenous fraction of a feedstuff, it is accepted that ileal digestibility is the most adequate, because the

principalmente por proteínas obtenidas de cerdos alimentados con dietas libres de proteína, método que incrementa las pérdidas de prolina, consecuentemente esas proteínas contenían una menor proporción de ácido glutámico<sup>(42,81)</sup>. Las proteínas endógenas determinadas empleando soya son los puntos del grupo cuatro más cercano al grupo cinco<sup>(74,76)</sup>. El quinto grupo se obtuvo empleando dietas elaboradas con base en pasta de soya suplementada con proteasas<sup>(76)</sup>, y proteínas ricas en cistina, que es el aminoácido que caracteriza el cuadrante donde se localizan estas proteínas.

En la Figura 3 se muestra la localización espacial de los aminoácidos, en ella se puede observar en relación al eje 1 que los aminoácidos que más contribuyen a la inercia del eje son el ácido glutámico con 58.0 % y cistina con 11.4 %, es decir son los aminoácidos que determinan en mayor grado la distribución de las proteínas endógenas con respecto al eje 1. Los aminoácidos que más contribuyen a la inercia del eje 2 son la arginina con 38.5 % y el ácido glutámico y la cistina con (22.1 y 21.3 % respectivamente). Estos aminoácidos (ácido glutámico, cistina y arginina) son los que básicamente marcan la diferencia entre los grupos de digestas.

Este análisis permitió corroborar que el perfil de aminoácidos de la proteína endógena está fuertemente influenciado por el método empleado para su determinación.

## RELACIÓN ENTRE LAS PÉRDIDAS ENDÓGENAS Y LA DIGESTIBILIDAD DE NITRÓGENO

La digestibilidad es una medida del valor nutritivo de los nutrimentos, y se expresa en diferentes formas dependiendo del método utilizado para su determinación. Para estimar el valor nutritivo de la fracción nitrogenada de un alimento, se considera que la expresión de la digestibilidad ileal es la más apropiada, pues el proceso digestivo de las proteínas y aminoácidos se completa hasta que la digesta alcance la parte distal del ileon.

*Digestibilidad aparente.* La digestibilidad aparente se define como la desaparición de un nutrimento durante su paso a través del tracto digestivo<sup>(50,89,90)</sup>, el término aparente se emplea para evidenciar que en el

digestive process of proteins and amino acids is completed when digesta reaches the distal part of ileum.

*Apparent digestibility:* apparent digestibility can be defined as the disappearance of a nutrient during its flow through the digestive tract<sup>(50,89,90)</sup>. The term apparent is used to make evident that when estimating digestibility no corrections have been made due to endogenous losses. Apparent digestibility (DA) coefficients for N and amino acids in diets are calculated through the following equation:

$$CDA = 1 - [(AA_{con} - AA_{exc}) / AA_{con}] \dots\dots\dots (1)$$

Where: *CDA* is the apparent ileal digestibility of a given feedstuff in a diet; *AA<sub>con</sub>* represents amino acids ingested; *AA<sub>exc</sub>* amino acids excreted in ileal digesta. When, owing to the method used for determining digestibility (cannula or sacrifice), it is impossible to recuperate the total ileal digesta, an internal marker is used and the following equation should be applied:

$$CDA = 1 - [(InD * AF) / (AD * InF)] \dots\dots\dots (2)$$

Where: *CDA* is the apparent ileal digestibility coefficient of a given feedstuff in a diet; *InD* is the concentration of the marker in mg kg<sup>-1</sup> DM; *AF* is the concentration of the feedstuff in ileal digest in mg kg<sup>-1</sup> DM; *AD* is the concentration of the feedstuff in the diet in mg kg<sup>-1</sup> DM; *InF* is the concentration of the marker in ileal digesta in mg kg<sup>-1</sup> DM.

*Standardized digestibility:* in an effort to define use of technical terms, so information coming from different sources can be used with absolute certainty<sup>(49,50)</sup>, the terms used for conceptualizing different types of measurement of digestibility of feedstuffs were redefined. Standardized digestibility can be described as that from which endogenous losses are subtracted from calculations, being endogenous losses quantified in the same experiment, which in the past generated true digestibility values<sup>(89)</sup>, or using an endogenous as reference "standard endogenous" (9,91). Standardized digestibility coefficients (CDE) can be obtained by means of the following formula:

cálculo de digestibilidad no se ha realizado ninguna corrección por pérdidas endógenas. Los coeficientes de digestibilidad aparente (DA) del N y aminoácidos de las dietas se calculan empleando la ecuación (1).

$$CDA = 1 - [(AA_{con} - AA_{exc}) / AA_{con}] \dots\dots (1)$$

Donde: *CDA* es el coeficiente de digestibilidad ileal aparente de un nutrimento en la dieta, *AA<sub>con</sub>* aminoácidos consumidos, *AA<sub>exc</sub>* aminoácidos excretados en la digesta ileal.

Cuando por el tipo de metodología empleada en la determinación de la digestibilidad (uso de cánulas o sacrificio) no se puede recuperar la totalidad de la digesta ileal, se emplea un marcador interno por lo que se requiere utilizar la ecuación (2).

$$CDA = 1 - [(InD \times AF) / (AD \times InF)] \dots\dots (2)$$

Donde *CDA* es el coeficiente de digestibilidad ileal aparente de un nutrimento en la dieta, *InD* es la concentración del indicador en la dieta en mg·kg<sup>-1</sup> de materia seca (MS), *AF* es la concentración del nutrimento en la digesta ileal en mg·kg<sup>-1</sup> de MS, *AD* es la concentración del nutrimento en la dieta en mg·kg<sup>-1</sup> de MS, *InF* es la concentración del indicador en la digesta ileal mg·kg<sup>-1</sup> de MS.

*Digestibilidad estandarizada.* En un esfuerzo por acotar el uso de los términos técnicos y que la información de diferentes fuentes pueda ser utilizada con seguridad<sup>(49,50)</sup>, se volvieron a definir los términos empleados para conceptualizar los diferentes tipos de medición de la digestibilidad de los nutrimentos. La digestibilidad estandarizada se definió como aquella en la que se sustraen del cálculo las pérdidas endógenas, ya sea a partir de una determinación de las pérdidas endógenas en el mismo experimento, cálculo que antiguamente generaba los valores de digestibilidad verdadera<sup>(89)</sup>, o empleando, un endógeno de referencia “endógeno estándar”<sup>(9,91)</sup>. Los coeficientes de digestibilidad estandarizada (*CDE*) se obtienen utilizando la fórmula (3).

$$CDE = CDA + (AA_{peb} / AA_{con}) \dots\dots (3)$$

Donde: *CDE* es el coeficiente de digestibilidad estandarizada de un nutrimento. *CDA* es el

$$CDE = CDA + (AA_{peb} / AA_{con}) \dots\dots (3)$$

Where: *CDE* is the standardized digestibility coefficient of a given feedstuff; *CDA* is the apparent digestibility coefficient of the same feedstuff; *AA<sub>peb</sub>* is the basal endogenous loss of the amino acid in mg kg<sup>-1</sup> DM; *AA<sub>con</sub>* is the amount of ingested amino acid in mg kg<sup>-1</sup> DM.

*True digestibility:* is a coefficient obtained when the indigestible fraction of a feedstuff can be detached from the endogenous losses<sup>(49,50)</sup>. In the past this coefficient was known as “real digestibility”<sup>(88,89)</sup>. Even though it is the most precise digestibility estimation of a feedstuff, due to the sophistication of the techniques used for determining it, very few references are available in literature<sup>(79,92,93)</sup>. The following equation is used for estimating true digestibility:

$$CDV = [AA_{con} - (AAdig - AA_{pet})] / AA_{con} \dots\dots (4)$$

Where: *CDV* is the true digestibility coefficient; *AA<sub>con</sub>* is the amount of ingested amino acid expressed in mg kg<sup>-1</sup> DM; *AAdig* is the ileal amino acids outflow); *AA<sub>pet</sub>* is the amount of total endogenous loss of the amino acid expressed in mg kg<sup>-1</sup> DM.

The advantage of using standardized digestibility is shown as an example in Table 1, that sums up a study by Furuya and Kaji<sup>(94)</sup>, who determined apparent and true (standardized, in accordance with the new definitions suggested by Stein *et al.*<sup>(49,50)</sup>) digestibility of three grains, maize, barley and wheat and soybean meal (upper part of the table). The four feedstuffs had different protein contents maize < barley < wheat < soybean meal. A great difference can be appreciated between the apparent digestibility coefficients of maize and barley with those of wheat and soybean meal. When looking at the standardized digestibility coefficients for the same feedstuffs, it can be seen that those differences dropped substantially, and that the correction was greater in those feedstuffs showing less content of the nutrient. This demonstrates the effect of nutrient content when determining apparent digestibility coefficients.

coeficiente de digestibilidad aparente de ese nutrimento.  $AA_{peb}$  es la cantidad de la pérdida endógena basal del aminoácido en  $mg \cdot kg^{-1}$  de MSC,  $AA_{con}$  es la cantidad de aminoácido consumido en  $mg \cdot kg^{-1}$  de MSC.

*Digestibilidad verdadera.* Es el coeficiente que se obtiene cuando puede separarse la fracción indigestible del alimento de las pérdidas endógenas Stein<sup>(49,50)</sup>. Anteriormente este coeficiente recibía el nombre de digestibilidad real<sup>(88,89)</sup>. A pesar de ser la estimación más precisa de la digestibilidad de una materia prima, por lo sofisticado de las técnicas empleadas en su determinación existen pocos reportes en la literatura<sup>(79,92,93)</sup>. Para estimarla se emplea la ecuación (4)

$$CDV = [AA_{con} - (AAdig - AA_{pet})] / AA_{con} \dots (4)$$

Donde:  $CDV$  es el coeficiente de digestibilidad verdadera,  $AA_{con}$  es la cantidad de aminoácido consumido en  $mg \cdot kg^{-1}$  de MSC;  $AAdig$  es el flujo de aminoácidos en digesta ileal;  $AA_{pet}$  es la cantidad de la pérdida endógena total del aminoácido en  $mg \cdot kg^{-1}$  de MSC.

La ventaja de utilizar la digestibilidad estandarizada se ejemplifica en el Cuadro 1, el cual resume el trabajo de Furuya y Kaji<sup>(94)</sup>; quienes determinaron la digestibilidad aparente y verdadera (estandarizada según las nuevas definiciones propuestas por Stein *et al.*<sup>(49,50)</sup>) de tres cereales, maíz, cebada y trigo y de una pasta de soya (parte superior del cuadro); las cuatro materias primas tenían un contenido de proteína, diferente: maíz < cebada < trigo < pasta de soya. Se puede observar una gran diferencia entre los coeficientes de digestibilidad aparente del maíz y cebada con los de trigo y pasta de soya. Cuando se observan los coeficientes de digestibilidad estandarizada se puede apreciar que esas diferencias disminuyeron sustancialmente, y que la corrección fue mayor en los alimentos con menor contenido del nutriente. Lo anterior demuestra el efecto del contenido del nutriente sobre la determinación de los coeficientes de digestibilidad aparente.

En ese mismo trabajo se midió la digestibilidad estandarizada en las dietas fabricadas empleando

Cuadro 1. Digestibilidad de las materias primas

Table 1. Feedstuff digestibility

	Maize	Barley	Wheat	Soybean meal
Protein content, %	7.6	9.50	11.90	43.70
DA	0.49	0.59	0.72	0.72
DE	0.76	0.79	0.89	0.83
Diet composition (%)				
	Maize	Barley	Wheat	
Maize	59.90			
Barley		61.80		
Wheat			66.90	
Soybean meal	26.10	23.20	18.40	
Diet digestibility coefficients				
	DA measured	DA estimated	DE measured	DE estimated
Protein				
Maize-soybean meal	0.73	0.66	0.84	0.81
Barley-soybean meal	0.73	0.67	0.84	0.82
Wheat-soybean meal	0.76	0.72	0.87	0.86

DA= apparent digestibility; DE= standardized digestibility.

Adapted from Furuya and Kaji<sup>(94)</sup>.

In the same study standardized digestibility of diets manufactured with the same feedstuffs was measured (diet composition is shown in the middle part of the table), and apparent and standardized digestibility coefficients for them were estimated. Results are shown in the lower part of the table, where it can be seen that when using the coefficients determined for the feedstuffs, digestibility prediction of diets was adequate when standardized digestibility coefficients were used, but not so when apparent digestibility coefficients were employed.

This shows the additivity of standardized digestibility coefficients, a property absent in apparent digestibility coefficients.

Additivity is an important characteristic that should be taken into account when formulating diets, because it is taken for granted that contribution of a digestible amino acid in a diet is the weighted sum of the amount contributed by each of the ingredients present in the mix. Due to this,

las mismas materias primas (la composición de las dietas se muestra en la parte media del cuadro), y se determinaron los coeficientes de digestibilidad aparente y estandarizada de ellas. Los resultados se presentan en la parte inferior del cuadro, donde puede observarse que al utilizar los coeficientes determinados en las materias primas la predicción de la digestibilidad de la dieta fue adecuada cuando se utilizaron los coeficientes de digestibilidad estandarizada, lo cual no se logró al emplear los coeficientes de digestibilidad aparente.

Lo anterior muestra la aditividad de los coeficientes de digestibilidad estandarizada, propiedad ausente en los coeficientes de digestibilidad aparente.

La aditividad es una característica importante que se debe considerar al formular una dieta, ya que se parte del supuesto de que el aporte de un aminoácido digestible en una ración es la suma ponderada de la cantidad aportada por cada uno de los ingredientes presentes en la mezcla. Por lo anterior, los coeficientes de digestibilidad estandarizada son los utilizados para formular las dietas<sup>(7-11)</sup>.

## CONCLUSIÓN

Se mostró cómo las pérdidas de N y aminoácidos endógenos son moduladas por la composición de la dieta, tanto en su cantidad como en la proporción de los aminoácidos dentro de la proteína endógena. El análisis factorial de correspondencia permitió corroborar que el perfil de aminoácidos de la proteína endógena está fuertemente influenciado por el tipo de dieta empleada en su determinación. También se mostró cómo se emplean las pérdidas basales del nitrógeno y aminoácidos para estimar los coeficientes de digestibilidad estandarizada, coeficientes que son los utilizados para formular las dietas para cerdos, lo que repercute en el uso de las materias primas disponibles en el mercado.

## LITERATURA CITADA

1. Darragh AJ, Hodgkinson SM. Criteria and significance of dietary protein sources in humans. Quantifying the digestibility of dietary protein. *J Nutr* 2000;130:1850S-1856S.

standardized digestibility coefficients are those used for formulating diets<sup>(7-11)</sup>.

## CONCLUSION

Amino acid and N losses are modulated inasmuch by diet composition as by amino acid proportion in endogenous proteins. FCA allowed corroborating that amino acid profiles of endogenous proteins are strongly influenced by type of diet used when determining them. It is also shown how basal amino acid and N losses are used for estimating standardized digestibility coefficients, which are those used for formulating pig diets, which affects the use of feedstuffs available in the marketplace.

*End of english version*

- 
2. Leterme P. Las pérdidas endógenas hasta el ileon del cerdo.1. Origen y factores de variación. *Acta Agro Colombia* 2001;51:1-13.
  3. Souffrant WB, Rérat A, Laplace JP, Darcy-Vrillon B, Köhler K, Corring T, Gebhardt G. Exogenous and endogenous contributions to nitrogen fluxes in the digestive tract of pigs fed casein diet. III. Recycling of endogenous nitrogen. *Reprod Nutr Develop* 1993;33:373-382.
  4. Fuller MF, Reeds PJ. Nitrogen cycling in the gut. *Annu Rev Nutr* 1998;18:385-411.
  5. Montagne L, Toullec R, Lallès JP. Intestinal digestion of dietary and endogenous proteins along the small intestine of calves fed soybean or potato. *J Anim Sci* 2001;79:2719-2730.
  6. Fan MZ, Chiba LI, Matzat PD, Yang X, Lin YL, Mine Y, Stein HH. Measuring synthesis rate of nitrogen-containing polymers by using stable isotope tracer. *J Anim Sci* 2006;84:E79-E93.
  7. INRA. Tables de composition et de valeur nutritive des matières premières destinées aux animaux d'élevage. Porcs, volailles, bovins, ovins, caprins, lapins, chevaux, poissons. Paris, France: Institut National de la Recherche Agronomique; 2002.
  8. Mariscal G, Ávila E, Tejada I, Cuarón J, Vásquez C. Tablas del contenido de aminoácidos totales y de los coeficientes de digestibilidad verdadera para aves y cerdos. Querétaro, México. INIFAP. 1997.
  9. Pedersen C, Boisen S. Establishment of tabulated values for standardized ileal digestibility of crude protein and essential amino acids in common feedstuffs for pigs. *Acta Agric Scand Sect A Anim Sci* 2002;52:121-140.
  10. NRC. Nutrient requirements of swine. Washington, DC: National Academy Press; 1998.
  11. AFZ, Ajinomoto E, Aventis AN, INRA, ITCF. Digestibilités iléales standardisées des acides aminés des matières premières chez le porc. Association Française de Zootechnie, Paris, France. 2002.

12. Ganong WF. *Fisiología Médica*. México, DF: El Manual moderno; 2002.
13. Guyton AC, Hall JE. *Tratado de fisiología médica*. Madrid, España: Elsevier; 2006.
14. Corring T. Endogenous secretion in the pig. In: Low AG, Partridge AG, editors. *Current concepts of digestion and absorption in pigs*. Reading, UK: The National Institute for Research in Dairying; 1979:136-150.
15. Juste C. Apports endogènes par les sécretions digestives chez le porc. In: Laplace JP, Corring T, Rérat A, editors. *Les Colloques de l'INRA*. 1982:155-173.
16. Buraczewski S. Endogenous NPN-compounds in the intestinal tract of monogastric animals. *Arch Anim Nutr* 1986;36:274.
17. Zebrowska T, Simon O, Munchmeyer R, Bergner H, Zebrowska H. Investigations on the amino acid secretion and absorption in the stomach of the growing pig. *Arch Anim Nutr* 1982;32:703.
18. Leibholz J. The flow of endogenous nitrogen in the digestive tract of young pigs. *Br J Nutr* 1982;48:509-517.
19. Drackley JK. Lipid Metabolism. In: D'Mello JPF, editor. *Farm animal metabolism and nutrition*. Wallingford, UK: CABI Publishing; 2000:97-120.
20. Corring T, Souffrant WB, Darcy-Vrillon B, Gebhardt G, Laplace JP, Rérat A. Exogenous and endogenous contribution to nitrogen fluxes in the digestive tract of pigs fed a casein diet. 1. Contribution of nitrogen from the exocrine pancreatic secretion and the bile. *Reprod Nutr Develop* 1990;30:717-722.
21. Souffrant WB, Darcy-Vrillon B, Corring T, Laplace JP, Köhler K, Gebhardt G, Rérat A. Recycling of endogenous nitrogen in the pig: Preliminary results of a collaborative study. *Arch Anim Nutr* 1986;36:269.
22. Corring T, Jung J. The amino acid composition of pig pancreatic juice. *Nutr Reprod Intl* 1972;6:187.
23. Corring T, Calmes R, Rérat A, Geugneau AM. Effets de l'alimentation protéoprive à court terme sur la sécrétion d'azote endogène: sécrétion pancréatique exocrine chez le porc. *Reprod Nutr Develop* 1984;24:495-506.
24. Corring T. Apport des protéines d'origine endogène par la sécrétion du pancréas exocrine chez le porc. *Ann Biol Anim Bioch Biophys* 1975;15:115-118.
25. Low AG. Studies on digestion and absorption in the intestine of growing pigs. 5. Measurements of the flow of nitrogen. *Br J Nutr* 1979;41:137-146.
26. Zebrowska T, Munchmeyer R, Bergner H, Simon O. Studies on the secretion of amino acids and of urea into the gastrointestinal tract of pigs. 2. Net secretion of leucine into the small and large intestines. *Arch Anim Nutr* 1986;36:17.
27. Buraczewska L. Secretion of nitrogen compounds in the small intestine of pigs. *Acta Physiol Pol* 1979;30:319.
28. Faure M, Moënnos D, Montigon F, Fay LB, Breullé D, Finot PA, Ballèvre O, Boza J. Development of a rapid and convenient method to purify mucins and determine *in vivo* synthesis rate in rats. *Anal Biochem* 2002;307:244-251.
29. Perez-Vilar J, Hill RL. The structure and assembly of secreted mucins. *J Biol Chem* 1999;274:31751-31754.
30. Montagne L, Toullec R, Lallès JP. Influence of dietary protein level and origin on the flow of mucin along the small intestine of the preruminant calf. *J Dairy Sci* 2000;83:2820-2828.
31. Bertolo RFP, L CCZ, Law G, Pencharz PB, Ball RO. Threonine requirement of neonatal piglets receiving total parenteral nutrition is considerably lower than that of piglets receiving an identical diet intragastrically. *J Nutr* 1998;128:1752-1759.
32. Madara JL, Schultz SG. Functional morphology of the epithelium of the small intestine. *Handbook of Physiology, Section 6: The Gastrointestinal System. Volume IV: Intestinal absorption and secretion*. Schultz SG, Field M, Frizzell RA, editors. Ameri Physiol Soc, Bethesda, Maryland, USA; 1991:83-87.
33. Zebrowska T. Nitrogen digestion on the large intestine. In *Physiologie digestive chez le porc*. In: Laplace JP, Corring T, Rérat A, editors. *Les Colloques de l'INRA*; Paris: INRA; 1982:225-236.
34. Krawielitzki K, Zebrowska T, Schadereit R, Kowalczyk J, Henning U, Wünsche J, Herrmann U. Determining nitrogen absorption and nitrogen secretion in different sections of the pig's intestine by digesta exchange between <sup>15</sup>N labeled and unlabelled animals. *Arch Anim Nutr* 1990;40:25-37.
35. Low AG. Endogenous nitrogen evaluation from absorption studies. In: Laplace JP, Corring T, Rérat A, editors. *Physiologie digestive chez le porc*; Les Colloques de l'INRA, No. 12; Paris, France 1982. p. 189-198.
36. Schulze H, van Leeuwen P, Verstegen MWA, Huisman J, Souffrant WB, Ahrens F. Effect of level of dietary neutral detergent fiber on ileal apparent digestibility and ileal nitrogen losses in pigs. *J Anim Sci* 1994;72:2362-2368.
37. Aguilera BA, Reis de Souza TC, Camacho MB, Escobar GK, Mariscal LG. Aislamiento del paquete bacteriano y cuantificación de DAPA en digesta ileal de lechones destetados [resumen]. *Congreso Nacional AMVEC*; Querétaro; 2007:220.
38. Karr-Lilienthal LK, Grieshop CM, Spears JK, Patil AR, Czarnecki-Maulden GL, Merchen NR, Fajey GC. Estimation of the proportion of bacterial nitrogen in canine feces using diaminopimelic acid as an internal bacterial marker. *J Anim Sci* 2004;82:1707-1712.
39. Sauer WC, Mosenthin R, Ahrens F, den Hartog LA. The effect of source of fiber on ileal and fecal amino acid digestibility and bacterial nitrogen excretion in growing pigs. *J Anim Sci* 1991;69:4070-4077.
40. Hess V, Sève B. Effects of body weight and feed intake level on basal ileal endogenous losses in growing pigs. *J Anim Sci* 1999;77:3281-3288.
41. Leterme P. Las pérdidas endógenas hasta el ileon del cerdo. 2. Métodos de determinación. *Acta Agro Colombia* 2001;51:15-24.
42. Mariscal-Landín G, Sève B, Collèaux Y, LeBreton Y. Endogenous amino nitrogen collected from pigs with end to end ileorectal anastomosis is affected by the method of estimation and altered by dietary fiber. *J Nutr* 1995;125:136-146.
43. Makkink CA, Heinz TH, Souffrant WB, Verstegen MWA. Endogenous N losses at the terminal ileum of young piglets fed diets based on four different protein sources. *J Anim Feed Sci* 1997;6:219-234.
44. Chung TK, Baker DH. Apparent and true amino acid digestibility of a crystalline amino acid mixture and of casein: Comparison of values obtained with ileal-cannulated pigs and cecotomized cockerels. *J Anim Sci* 1992;70:3781-3790.
45. Jansman AJM, Smink W, van Leeuwen P, Rademacher M. Evaluation through literature data of the amount and amino acid composition of basal endogenous crude protein at the terminal ileum of pigs. *Anim Feed Sci Technol* 2002;98:49-60.
46. Fan MZ, Sauer WC. Determination of true ileal amino acid digestibility in feedstuffs for pigs with the linear relationships



- between distal ileal outputs and dietary inputs of amino acids. *J Sci Food Agric* 1997;22:189-199.
47. de Lange CFM, Sauer WC, Souffrant WB. The effect of protein status of the pig on the recovery and amino acid composition of endogenous protein in digesta collected from the distal ileum. *J Anim Sci* 1989;67:755-762.
  48. Nyachoti CM, de Lange CFM, Schulze H. Estimating endogenous amino acid flows at the terminal ileum and true ileal amino acid digestibilities in feedstuffs for growing pigs using the homoarginine method. *J Anim Sci* 1997;75:3206-3213.
  49. Stein HH, Sève B, Fuller MF, Moughan PJ, de Lange CFM. Invited review: Amino acid bioavailability and digestibility in pig feed ingredients: Terminology and application. *J Anim Sci* 2007;85:172-180.
  50. Stein HH, Fuller MF, Moughan PJ, Sève B, Moshentn R, Jansman AJM, Fernandez JA, de Lange CFM. Definition of apparent, true and standardized ileal digestibility of amino acids in pigs. *Livest Sci* 2007;109:282-285.
  51. Butts CA, Moughan PJ, Smith WC, Carr DH. Endogenous lysine and other amino acid flow at the terminal ileum of the growing pig (20 kg bodyweight): the effect of protein-free, synthetic amino acid, peptide and protein alimentation. *J Sci Food Agric* 1993;61:31-40.
  52. Pedersen C, Boisen S, Fernández JA. Studies on the effect of dietary crude protein supply on the composition of ileal endogenous crude protein loss in growing pigs. *Acta Agric Scand Sect A Anim Sci* 2002;52:141-149.
  53. Stein HH, Trottier NL, Bellaver C, Easter RA. The effect of feeding level and physiological status on total flow and amino acid composition of endogenous protein at the distal ileum in swine. *J Anim Sci* 1999;77:1180-1187.
  54. Mariscal-Landín G, Reis de Souza TC. Endogenous ileal losses of nitrogen and amino acids in pigs and piglets fed graded levels of casein. *Arch Anim Nutr* 2006;60:454-466.
  55. Eklund M, Mosenthin R, Piepho H, Rademacher M. Estimates of the basal ileal endogenous losses of amino acids by regression analysis and determination of standardised ileal amino acids digestibilities from casein in newly weaned piglets. *J Sci Food Agric* 2008;88:641-651.
  56. Mariscal-Landín G, Avellaneda JH, Reis de Souza TC, Aguilera A, Borbolla GA, Mar BB. Effect of tannins in sorghum on amino acid ileal digestibility and on trypsin (E.C.2.4.21.4) and chymotrypsin (E.C.2.4.21.1) activity of growing pigs. *Anim Feed Sci Technol* 2004;117:245-264.
  57. Valette P, Malouin H, Corring T, Savoie L, Gueugneau AM, Berot S. Effects of diets containing casein and rapeseed on enzyme secretion from the exocrine pancreas in the pig. *Br J Nutr* 1992;67:215-222.
  58. Jondreville C, van den Broecke J, Gate F, Grosjean F, van Cauwenberghe S, Sève B. Ileal digestibility of amino acids and estimates of endogenous amino acid losses in pigs fed wheat, triticale, rye, barley, maize and sorghum. *Anim Res* 2001;50:119-134.
  59. Le Gall M, Quillien L, Guéguen J, Rogniaux H, Sève B. Identification of dietary and endogenous ileal protein losses in pigs by immunoblotting and mass spectrometry. *J Nutr* 2005;135:1215-1222.
  60. Salgado P, Montagne L, Freire JPB, Ferreira RB, Teixeira A, Bento O, Abreu MC, Toullec R, Lallès JP. Legume grains enhance ileal losses of specific endogenous serine-protease proteins in weaned pigs. *J Nutr* 2002;132:1913-1920.
  61. Bayardo UA. Efecto del nivel y tipo de fibra sobre la excreción de nitrógeno y aminoácidos endógenos y su efecto sobre la digestibilidad ileal de la proteína en cerdos. [tesis maestría]. México: Universidad Nacional Autónoma de México; 2000.
  62. Reverter M, Lindberg JE. Ileal digestibility of amino acids in pigs given a barley-based diet with increasing inclusion of Lucerne meal. *J Anim Sci* 1998;67:131-138.
  63. Izydorczyk MS, Storsley J, Labossiere D, MacGregor AW, Rossnagel BG. Variation in total and soluble  $\beta$ -glucan content in hullless barley: effects of thermal, physical and enzymic treatments. *J Agric Food Chem* 2000;48:982-989.
  64. Jensen MS, Bach Knudsen KE, Inbarr J, Jakobsen K. Effect of  $\beta$ -glucanase supplementation on pancreatic enzyme activity and nutrient digestibility in piglets fed diets based on hulled and hullless barley varieties. *Anim Feed Sci Technol* 1998;72:329-345.
  65. den Hartog LA, Huisman J, Thielen WJG, Van Schayk GHA, Böer H, Van Weerden EJ. The effect of including various structural polysaccharides in pig diets on ileal and faecal digestibility of amino acids and minerals. *Livest Prod Sci* 1988;18:157-170.
  66. Graham H, Hesselman K, Åman P. The influence of wheat bran and sugar-beet pulp on the digestibility of dietary components in a cereal-based pig diet. *J Nutr* 1986;116:242-251.
  67. Jansman AJM, Huisman J, van der Poel AFB. Ileal and faecal digestibility in piglets of field beans (*Vicia faba* L.) varying in tannin content. *Anim Feed Sci Technol* 1993;42:83-96.
  68. Mehansho H, Clements S, Sheare BT, Smith S, Carlson DM. Induction of proline-rich glycoprotein synthesis in mouse salivary glands by isoproterenol and by tannins. *J Biol Chem* 1985;260:4418-4423.
  69. Charlton AJ, Baxter NJ, Khan ML, Moir AJG, Haslam E, Davies AP, Williamson MP. Polyphenol/peptide binding and precipitation. *J Agric Food Chem* 2002;50:1593-1601.
  70. Mitaru BN, Reichert RD, Blair R. The binding of dietary protein by sorghum tannins in the digestive tract of pigs. *J Nutr* 1984;114:1787-1796.
  71. Al-Mamary M, Al-Habori M, Al-Aghbari A, Al-Obeidi A. In vivo effects of dietary sorghum tannins on rabbit digestive enzymes and mineral absorption. *Nutr Res* 2001;21:1393-1401.
  72. Horigome T, Kumar R, Okamoto K. Effects of condensed tannins prepared from leaves of fodder plants on digestive enzymes in vitro and in the intestine of rats. *Br J Nutr* 1988;60:275-285.
  73. Jansman AJM, Enting H, Verstegen MWA, Huisman J. Effect of condensed tannins in hulls of faba beans (*vicia faba* L.) on the activities of trypsin (EC 2.4.21.4) and chymotrypsin (EC 2.4.21.1) in digesta collected from the small intestine of pigs. *Br J Nutr* 1994;71:627-641.
  74. Caine WR, Sauer WC, Verstegen MWA, Tamminga S, Shaoyan L, Schulze H. Guanidination protein test meals with higher concentration of soybean trypsin inhibitors increase ileal recoveries of endogenous amino acids in pigs. *J Nutr* 1998;128:598-605.
  75. SAS. Statistical Analysis Systems Institute User's guide. In. 9.1 ed. Cary NC.: SAS Institute Inc.; 2002.
  76. Caine WR, Tamminga S, Verstegen MWA, Sauer WC, Schulze H. Endogenous recoveries and true ileal digestibilities of amino acids in newly weaned pigs fed diets with protease-treated soybean meal. *J Anim Sci* 1997;75:2970-2979.

77. Donkoh A, Moughan PJ. Endogenous ileal nitrogen and amino acid flows in the growing pig receiving a protein free diet and diets containing enzymatically hydrolysed casein or graded levels of meat and bone meal. *J Anim Sci* 1999;68:511-518.
78. Hernández DAA. Caracterización del Nitrógeno endógeno presente en el contenido ileal de lechones recién destetados [tesis maestría]. México: Universidad Nacional Autónoma de México; 2006.
79. Hess V, Thibault JN, Sève B. The <sup>15</sup>N amino acid dilution method allows the determination of the real digestibility and of the ileal endogenous losses of the respective amino acid in pigs. *J Nutr* 1998;128:1969-1977.
80. Hodgkinson SM, Moughan PJ, James KAC. The effect of dietary peptide concentration on endogenous ileal amino acid loss in the growing pig. *Br J Nutr* 2000;83:421-430.
81. Hodgkinson SM, Moughan PJ, Reynolds GW. Effect of the duration of feeding of a protein-free diet on endogenous ileal nitrogen and amino acid loss in the growing pig. *J Sci Food Agric* 2000;80:1407-1412.
82. Hodgkinson SM, Souffrant WB, Moughan PJ. Comparison of the enzyme-hydrolyzed casein, guanidination, and isotope dilution methods for determining ileal endogenous protein flow in the growing rat and pig. *J Anim Sci* 2003;81:2525-2534.
83. Leterme P, Sève B, Théwis A. The current <sup>15</sup>N-leucine infusion technique is not suitable for quantitative measurements of ileal endogenous amino acid flows in pigs. *J Nutr* 1998;128:1961-1968.
84. Leterme P, Théwis A. Effect of pig body weight on ileal amino acid endogenous losses after ingestion of a protein free diet enriched in pea inner fibre isolates. *Reprod Nutr Develop* 2004;44:407-417.
85. Otto ER, Yokoyama M, Ku PK, Ames NK, Trotter NL. Nitrogen balance and ileal amino acid digestibility in growing pigs fed diets reduced in protein concentration. *J Anim Sci* 2003;81:1743-1753.
86. Apolônio LR, Donzele JL, de Oliveira RFM, Silva FCO, Lopes DC, Freitas LS. Digestibilidade ileal de aminoácidos de alimentos utilizados em dietas pré-iniciais para leitões, determinada pelo método do sacrifício. *R Bras Zootec* 2002;31:1983-1998.
87. Schulze H, Butts CA, Moughan PJ, Verstegen MWA. The <sup>15</sup>N-isotope dilution method for determining ileal endogenous nitrogen excretion in the young (10 kg liveweight) pig. *J Sci Food Agric* 1995;69:41-50.
88. Souffrant WB. Endogenous nitrogen losses during digestion in pigs. In: Verstegen MWA, Huisman J, den Hartog LA, editors. *Digestive physiology in pigs*; 1991; Pudoc, Wageningen; 1991:147.
89. Low AG. Digestibility and availability of amino acids from feedstuffs for pigs: A review. *Livest Prod Sci* 1982;9:511-520.
90. Sauer WC, Fan MZ, Mosenthin R, Drochner W. Methods for measuring ileal amino acid digestibility in pigs. In: D'Mello JPF, editor. *Farm Animal Metabolism and Nutrition*. Wallingford, UK: CABI publishing; 2000:279-306.
91. Mariscal-Landín G. Facteurs de variation de l'utilisation digestive des acides aminés chez le porc. Rennes, France: Université de Rennes I. 1992.
92. Lahaye L, Ganier P, Thibault JN, Sève B. Technological processes of feed manufacturing affect protein endogenous losses and amino acid availability for body protein deposition in pigs. *Anim Feed Sci Technol* 2004;113:141-156.
93. Lahaye L, Riou Y, Sève B. The effect of gridding and pelleting of wheat and maize on amino acids true ileal digestibility and endogenous losses in growing pigs. *Livest Sci* 2007;109:138-140.
94. Furuya S, Kaji Y. Additivity of the apparent and true digestible amino acid supply in barley, maize, wheat or soya bean based diets for growing pigs. *Anim Feed Sci Technol* 1991;32:321-331.