



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Ciencias Naturales
Maestría en Salud y Producción Animal Sustentable

**Efecto de la fuente de proteína dietética sobre la digestibilidad de los
nutrimentos en lechones destetados**

TESIS

Como parte de los requisitos para obtener el grado de Maestría en Salud y
Producción Animal Sustentable

Presenta:

Sara Rubio Rubio

Dirigido por:

Dra. Tércia Cesária Reis de Souza

SINODALES

Dra. Tércia Cesária Reis de Souza
Presidente

Dr. Gerardo Mariscal Landín
Secretario

Dra. Araceli Aguilera Barreyro
Vocal

Dr. Konisgmar García Escobar
Suplente

Dr. José Guadalupe Gómez Soto
Suplente

Dra. Juana Elizabeth Elton Puente
Directora de la Facultad

Firma
Firma
Firma
Firma
Firma

Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña
Directora de Investigación y Posgrado

Centro Universitario
Querétaro, Qro.
Diciembre, 2018
México

RESUMEN

El consumo de dietas a base de pasta de soya en la fase posdestete de los cerdos provoca cambios en la fisiología del tracto gastrointestinal y en la microbiota que participa en la fermentación de las proteínas no digeridas y/o absorbidas, disminuyendo la digestibilidad de la dieta, ocasionando diarreas y bajo crecimiento de los lechones. Para contrarrestar esta situación se adiciona antibióticos como promotores de crecimiento a estas dietas. En el presente trabajo se utilizaron fuentes alternativas de proteína como el plasma porcino (PP) o concentrado de proteína de papa (CPP) en dietas libres de antibiótico con el fin de determinar la digestibilidad ileal aparente y estandarizada y la digestibilidad aparente fecal de los nutrimentos de cuatro tratamientos experimentales: 1. Dieta control con pasta de soya (PS) con antibiótico (PSAB); 2. Dieta con PS sin antibiótico (PS); 3. Dieta con PS+PP sin antibiótico (PP); y 4. Dieta con PS+CPP sin antibiótico (CPP). Cada una de las dietas fue adicionada con dióxido de titanio como marcador. Se utilizaron 24 lechones destetados a los 17.3 ± 0.90 días de vida con un peso de 5.7 ± 0.59 kg, canulados a nivel ileal a los 21 días de edad. Las muestras de heces fueron colectadas los días 21 y 22 posdestete. La colecta ileal se realizó los días 22 y 23 posdestete. Se determinó materia seca (MS), proteína cruda (PC), energía bruta (En) y dióxido de titanio en las dietas, muestras de heces y digesta ileal. La digestibilidad ileal de la MS no varió ($P>0.05$) entre las diferentes dietas. La digestibilidad ileal de la PC de las dietas CPP y PSAB fue mayor ($P<0.05$) que la digestibilidad de las dietas PS y PP. La digestibilidad total de MS y de En de la dieta CPP fue mayor ($P<0.05$) que las dietas PSAB, PS y PP. La digestibilidad total de PC de la dieta CPP fue mayor ($P<.05$) a la dieta PS, pero similar ($P>0.05$) a las dietas PSAB y PP. La digestibilidad ileal estandarizada de la PC de las dietas CPP y PSAB fue mayor ($P<0.05$) que la digestibilidad de las dietas PS y PP. De acuerdo a los resultados obtenidos, el uso de concentrado de proteína de papa es una buena alternativa como fuente de proteína en dietas para lechones recién destetados.

SUMMARY

The soybean meal based diets consumption in the post-weaning phase of pigs causes changes in the physiology and microbiota of the gastrointestinal tract, that contributes to the fermentation of undigested and/or absorbed proteins, decreasing the diet digestibility, causing diarrhea and low growth of piglets to avoid this, antibiotics are added to the diets as growth promoters. Because of this, alternative sources of protein such as porcine plasma (PP) or potato protein concentrate (CPP) were used in antibiotic-free diets in this experiment to determine the apparent and standardized ileal digestibility and the total digestibility of four experimental treatments: 1. Control diet with soybean meal (SBM) with antibiotic (SBMAB), 2. Diet with SBM without antibiotic (SBM), 3. Diet with SBM + PP without antibiotic (PP), and 4. Diet with SBM + PPC without antibiotic (PPC). Each of the diets was added with titanium dioxide as a marker. Twenty-four weaned piglets were used at 17.3 ± 0.90 days of life with a weight of 5.7 ± 0.59 kg, cannulated at 21 days of age. The stool samples were collected on days 21 and 22 post-weaning. The ileal digesta collection was performed on days 22 and 23 post-weaning. Dry matter (DM), crude protein (CP), energy (En), and titanium dioxide were determined in the diets, feces and ileal digesta. The DM ileal digestibility did not vary ($P > 0.05$) between the different diets. The CP ileal digestibility of the PPC and SBMAB diets was higher ($P < 0.05$) than the digestibility of the SBM and PP diets. The DM and En total digestibility of PPC diet was higher ($P < 0.05$) than the total digestibility of SBMAB, SBM and PP diets. The CP total digestibility of the PPC diet was higher ($P < .05$) to the PS diet, but similar ($P > 0.05$) to the SBMAB and PP diets. The standardized CP ileal digestibility of the PPC and SBMAB diets was higher ($P < 0.05$) than the digestibility of the SBM and PP diets. According to the results obtained, the use of potato protein concentrate is a good alternative protein source to be used in diets for early weaned piglets.

DEDICATORIA

A mis padres con todo mi amor y respeto, Irene Rubio y Luis Rubio, que siempre han estado conmigo, dándome el mejor ejemplo de perseverancia, apoyándome en todo momento e impulsándome a seguir mis sueños.

A mis hermanos, Rocío y José Luis, por estar siempre conmigo, aunque estemos lejos.

A German, por su apoyo.

A mi hijo Sebastián, por ser el amor y motor de mi vida.

AGRADECIMIENTOS

A Dios...

A mi directora de tesis, Dra. Tércia Cesária Reis de Souza, por su apoyo, por sus consejos, y sobre todo por su paciencia durante todo este tiempo.

A la Dra. Araceli Aguilera Barreyro, por sus enseñanzas, su apoyo y por ser una guía para mí durante estos dos años.

Al Dr. Gerardo Mariscal Landín, por sus enseñanzas y comentarios en este trabajo de investigación que me ayudaron a una mejor comprensión.

Al Dr. Konisgmar Escobar García, por todo lo que me ha enseñado y por su apoyo en el laboratorio.

A mi querido amigo y sinodal el Dr. José Guadalupe Gómez Soto, por su apoyo en mi proyecto de investigación, por sus consejos, y principalmente por su tan valiosa amistad de años.

A todos los que me ayudaron en la realización de mis bloques experimentales: Enrique Mandujano, Miriam Olivo, Yanier Machado, Andrea Ruíz y Alondra Moreno.

A Aurora Jáuregui, por toda su ayuda en el laboratorio.

A CONACYT por brindarme el apoyo económico para realizar esta la Maestría en Salud y Producción Animal Sustentable.

A la Universidad Autónoma de Querétaro por brindar el apoyo económico a través del proyecto FOFIUAQ FNV201603.

Al CENIDFyMA- INIFAP por facilitar las instalaciones para la realización de este proyecto; a los trabajadores de la planta de alimentos, a los químicos del laboratorio por enseñarme nuevas técnicas de laboratorio.

A todas las personas que me apoyaron en este proyecto, GRACIAS.

ÍNDICE

RESUMEN	i
SUMMARY	ii
DEDICATORIA	iv
AGRADECIMIENTOS	vi
ÍNDICE	vii
ÍNDICE DE CUADROS	viii
ÍNDICE DE FIGURAS	ix
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1 Destete	3
2.1.1 Efecto del destete en el tracto gastrointestinal	7
2.2 Antibióticos en la alimentación de cerdos	8
2.3 Alimentos funcionales para lechones destetados	9
2.4 Fuentes de proteína en la alimentación de cerdos	11
2.4.1 Pasta de soya	11
2.4.2 Concentrado de proteína de papa	13
2.4.3 Plasma porcino	14
2.5 Digestibilidad de los alimentos	16
2.5.1 Digestibilidad aparente	18
2.5.2 Digestibilidad verdadera	18
2.5.3 Digestibilidad ileal estandarizada	19
2.5.4 Tipos de digestibilidad	19
2.5.4.1 Digestibilidad ileal	20
2.5.4.2 Digestibilidad fecal	20
III. HIPÓTESIS	22
IV. OBJETIVOS	23
4.1 Objetivo general	23
4.2 Objetivos específicos	23

V. MATERIAL Y MÉTODOS	24
5.1 Localización	24
5.2 Animales	24
5.3 Canulación	24
5.4 Dietas experimentales	25
5.5 Colecta fecal	26
5.6 Colecta ileal	27
5.7 Sacrificio	27
5.8 Análisis químicos	27
5.9 Determinación de digestibilidad aparente ileal y fecal	28
5.10 Determinación de la digestibilidad ileal estandarizada	28
5.11 Análisis estadísticos	28
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	29
6.1 Digestibilidad ileal aparente	29
6.2 Digestibilidad total aparente	31
6.3 Digestibilidad ileal estandarizada	33
VII. CONCLUSIONES	35
VIII. LITERATURA CITADA	36
IX. APÉNDICE	46

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Composición química de las dietas experimentales.	25
2	Digestibilidad ileal aparente de material seca y proteína cruda.	29
3	Digestibilidad total aparente de material seca, proteína cruda y energía.	31
4	Digestibilidad ileal estandarizada.	33

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Consumo de alimento en lechones destetados a los 21 días.	4
2	Fases aguda y adaptativa en el desarrollo de lechones destetados.	5
3	Patogénesis del síndrome posdestete.	6
4	Esquema de actividades para prueba de digestibilidad.	25
5	Digestibilidad ileal aparente (DIA) y digestibilidad ileal estandarizada (DIE) de PC.	34

I. INTRODUCCIÓN

El destete es considerado como una de las etapas más críticas en la producción porcina, ya que durante este los lechones sufren cambios nutricionales, ambientales, sociales y físicos, pues son separados de su madre y se les alimenta con una dieta sólida muy diferente a la leche de la cerda que recibían durante la etapa de lactación, aunado a la interacción con compañeros desconocidos, transporte y un sistema de alojamiento distinto (Pluske *et al.*, 2007; Kim *et al.*, 2011; Campbell *et al.*, 2013). Por lo tanto, el periodo posdestete es una fase de adaptación y de estrés en respuesta a estos factores causantes de desajustes fisiológicos y metabólicos que alteran su desempeño en los siguientes días (Roldán *et al.*, 2013), caracterizado por una baja e inestable ingestión de alimento, un índice de crecimiento pobre y un incremento de la susceptibilidad frente a agentes patógenos entéricos causantes de enfermedades (Pluske *et al.*, 2007).

Como una medida preventiva contra las diarreas y como promotores de crecimiento, se han incluido dosis subterapéuticas de antibióticos en las dietas (Reis de Souza *et al.*, 2010), pero el uso generalizado de antibióticos como medicación profiláctica o como promotor del crecimiento se ha relacionado con el aumento de la resistencia a los antibióticos por los patógenos encontrados en animales y seres humanos. Por esta razón, se ha prohibido el uso de antibióticos promotores del crecimiento en la alimentación animal en Suiza desde 1999 y en la Unión Europea desde el año 2006 (Bühler *et al.*, 2006). En México, de acuerdo al Diario Oficial de la Federación (2018), se estipuló una estrategia nacional de acción contra la resistencia a los antimicrobianos, teniendo como objetivos principales la utilización de forma óptima de los agentes antimicrobianos, concientizando y reforzando los conocimientos acerca del uso de estos.

Jin *et al.* (2008) señalan que existen proteínas de origen vegetal que pueden reemplazar a las de origen animal en las raciones de lechones por su alto contenido de aminoácidos, aunque la inclusión de estas proteínas como sustitutivo de la leche, causan cambios en la digestión incluyendo una disminución en la digestibilidad de nutrientes (Montagne *et al.*, 2001). La pasta de soya (PS) ha sido la fuente de proteína más utilizada en las dietas para cerdos; sin embargo, el efecto de sus factores antinutricionales aunado a la no adición de antibióticos en la dieta podría disminuir la digestibilidad de los

nutrimentos y agudizar el síndrome de las diarreas posdestete (Berrocoso *et al.*, 2013), lo que ha llevado a la búsqueda de fuentes alternativas de proteína que disminuyan estos efectos, como el plasma porcino y el concentrado de proteína de papa.

El uso de plasma porcino en dietas de lechones recién destetados precozmente tiene efectos benéficos sobre la función de la barrera intestinal, inflamación y diarrea (Peace *et al.*, 2011), actúa como un control pasivo a la infección por *Escherichia coli* enterotoxigénica, además de que mejora el consumo de alimento y la ganancia de peso, especialmente cuando se usan dietas vegetales (Valencia y Serrano, 2006). Se han estudiado mecanismos para tales efectos como protección reforzada de glicoproteína contra *E. coli* y protección específica provocada por las inmunoglobulinas plasmáticas (de Lange *et al.*, 2010).

La papa presenta propiedades antimicrobianas por contener en su composición un péptido llamado potamin-1 (PT-1), el cual inhibe el crecimiento *in vitro* de bacterias patógenas y cuando se incluye en la dieta de cerdos destetados mejora su rendimiento y reduce la población de coliformes fecales (Ohh *et al.*, 2009). Otro péptido es Snakin-1 (StSN1), el cual es un péptido antimicrobiano rico en cisteína de amplio espectro que ejerce una fuerte actividad antimicrobiana contra los fitopatógenos y los patógenos animales (Almasia *et al.*, 2017).

Por lo anteriormente mencionado, en este trabajo de tesis, se pretende evaluar el efecto del concentrado de proteína de papa y plasma porcino adicionado a dietas sin antibiótico sobre la digestibilidad de los nutrimentos en lechones recién destetados. Paralelamente se evaluará el efecto de la adición de antibiótico sobre la digestibilidad de los nutrimentos.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 DESTETE

El destete es un proceso brusco que ocurre entre la segunda y la quinta semana de edad, que conlleva la separación de la cerda y el ofrecimiento de dietas sólidas, por lo cual un múltiple número de factores de estrés afectan el estado psicológico, social, inmunológico y nutricional de los lechones recién destetados (Mavromichalis, 2006; Campbell *et al.*, 2013; Zhang *et al.*, 2014).

La maduración intestinal del lechón comercial se ve comprometida en dos aspectos. Primero, la transición de la lactancia a dietas sólidas es abrupta en lugar de progresiva, y segundo, las demandas de desarrollo en el intestino por el cambio en el aporte dietético generalmente preceden a las adaptaciones inducidas temporalmente observadas en lechones no destetados entre 2 y 4 semanas, por lo que el destete comercial superpone el propio calendario de eventos sobre la maduración natural de la fisiología digestiva de los lechones, instigando una aceleración severa del proceso de destete y lanzando el programa de desarrollo a un estado de "recuperación" (Pluske *et al.*, 2003). La restricción funcional que esto impone, generalmente resulta en una reducción dramática de consumo de materia seca (Figura 1), el cual se recupera hasta la segunda semana posdestete (Pluske *et al.*, 2003; Campbell *et al.*, 2013). Esto contribuye al pobre índice de crecimiento del lechón al destete, así como a la atrofia de vellosidades en el intestino delgado, dando lugar a una mala digestión y absorción (van Beers- Schreus *et al.*, 1998; Reis de Souza *et al.*, 2005). El destete produce una discapacidad en la función de la barrera intestinal como defensa en contra de agentes patógenos y agentes luminales (Peace *et al.*, 2011; Campbell *et al.*, 2013). Esta situación genera cambios morfológicos y funcionales en el tracto gastrointestinal, que pueden causar trastornos en el consumo de alimento y alteraciones en el proceso digestivo, impidiendo que el animal cubra sus requerimientos de proteína y energía, lo que dificulta su crecimiento inicial (Reis de Souza *et al.*, 2012), por lo que se debe estimular el consumo ofreciendo alimentos con una calidad similar a los nutrimentos que tiene la leche materna (Gómez *et al.*, 2008).

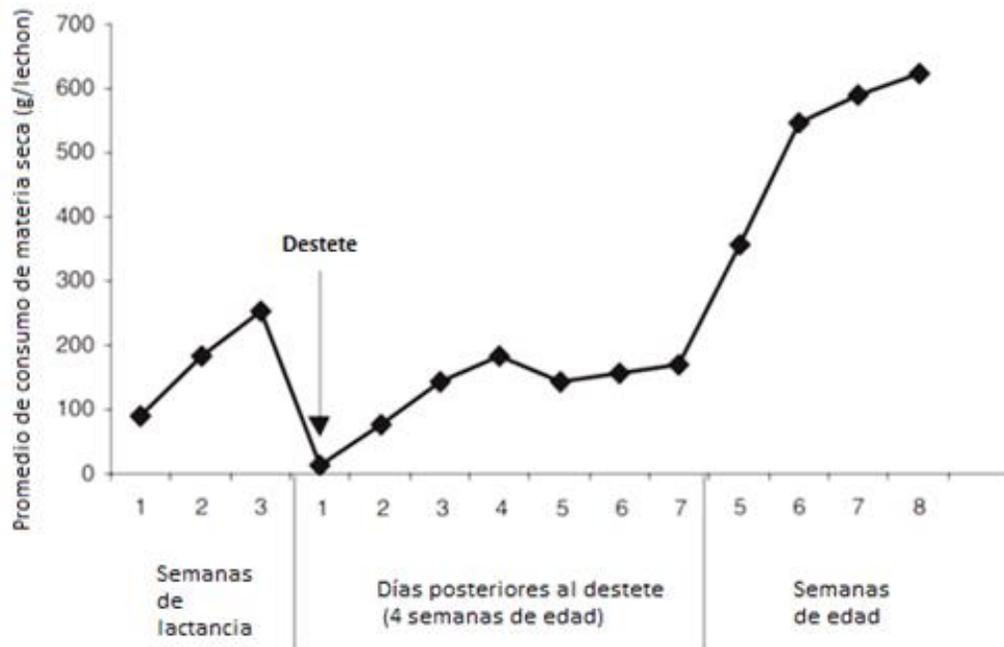


Figura 1. Consumo de alimento en lechones destetados a los 21 días (Pluske *et al.*, 2003).

El tracto gastrointestinal de un cerdo es un ambiente complejo, particularmente en el tiempo del destete, donde el intestino del lechón cambia en tamaño, sufre cambios en la microbiota, y rápidamente altera sus funciones digestivas e inmunes. Estos cambios son alterados por el ambiente del lechón, estrategias de alimentación, edad al destete, mediado por estrés psicológico y conductual (de Lange *et al.*, 2010). Según Pluske *et al.* (2003) algunos investigadores han dividido estos cambios en dos fases: una fase aguda, observada en los primeros cinco a siete días después del destete, y una fase adaptativa, la cual ocurre subsecuentemente (Figura 2). Hacen una distinción entre estas dos fases basados en los cambios en el consumo del alimento, ya que a los lechones recién destetados les lleva aproximadamente siete días aprender a comer y reanudar el nivel de ingesta de materia seca que es comparable a la que se observó durante el periodo previo al destete (Pluske *et al.*, 2003).

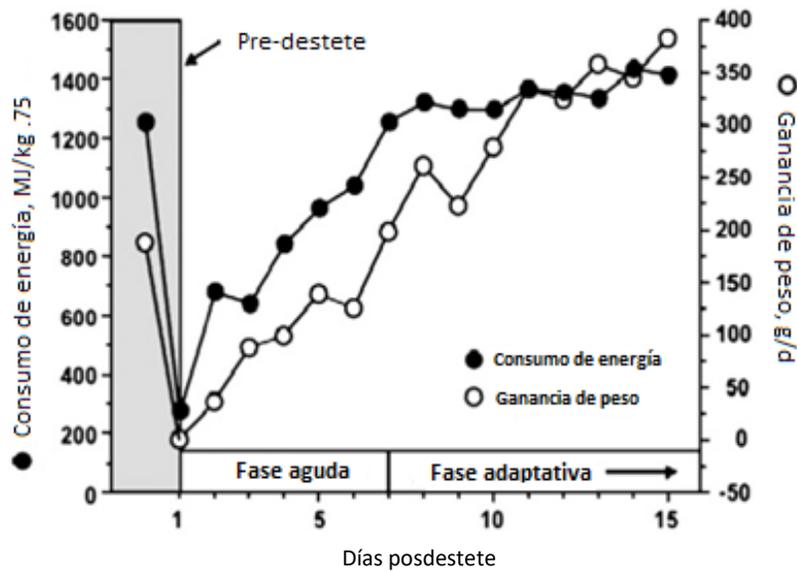


Figura 2. Fases aguda y adaptativa en el desarrollo de lechones destetados (Pluske *et al.*, 2003).

Zhang *et al.* (2014), demostraron que el estrés del destete puede causar fácilmente un cambio en la morfología intestinal, incluyendo una disminución en la altura de las vellosidades y un incremento en la profundidad de las criptas en el intestino delgado. Esto generalmente da como resultado la pérdida de enterocitos maduros portadores de enzimas de borde de cepillo, como aminopeptidasas y diversas carbohidrasas, y subsecuentemente reduce la digestibilidad de nutrientes, especialmente de proteínas y carbohidratos.

La capacidad de los lechones destetados de producir HCl en el estómago entre la segunda y quinta semanas de edad es limitada, ya que tienen un sistema digestivo poco desarrollado (Mavromichalis, 2006); como consecuencia incrementa el pH lo que provoca una digestión ineficiente de la proteína, y una llegada masiva de patógenos al intestino delgado, al carecer el animal de la barrera ácida protectora (Kim *et al.*, 2011), siendo vulnerables a microorganismos potencialmente nocivos como *Escherichia coli*, *Salmonella spp.*, *Clostridium perfringens* y *Campylobacter sputorium* causando diarreas (van Beers- Schreus *et al.*, 1998; Williams *et al.*, 2001; Gómez *et al.*, 2008). El bajo consumo de alimento lleva a una mala digestión y absorción y también a una reducción

en la función de la barrera intestinal (Figura 3) (Pluske *et al.*, 2003). Además, el metabolismo de material proteico por la microbiota en el intestino grueso, incrementa los niveles de sustancias potencialmente tóxicas como amonio, aminas, índoles, fenoles y ácidos grasos de cadena ramificada, los cuales han estado implicados en la patogénesis de la diarrea posdestete.

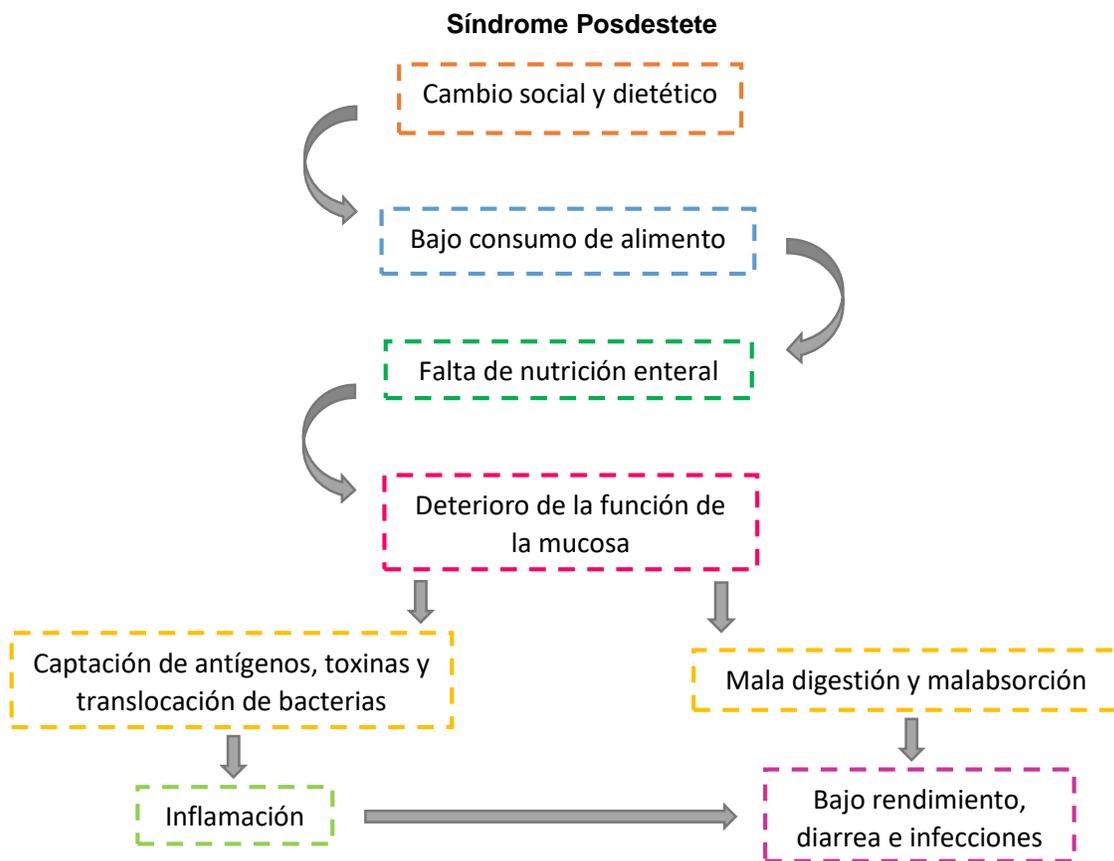


Figura 3. Síndrome posdestete (Pluske *et al.*, 2003).

La diarrea y la reducción en la tasa de crecimiento durante el periodo inmediato posterior al destete es un problema importante en la nutrición y el manejo de los lechones (Nyachoti *et al.*, 2006). La diarrea posdestete es una condición multifactorial caracterizada por una descarga frecuente de heces acuosas que pueden causar morbilidad y mortalidad (Rist *et al.*, 2013). Esta condición está típicamente asociada al desprendimiento fecal de cepas enterotoxigénicas β - hemolíticas de *Escherichia coli*. Estas cepas proliferan en el intestino delgado después de haber sido ligadas a los receptores epiteliales y liberar toxinas (Heo *et al.*, 2009). La diarrea posdestete, causada

por *Escherichia coli* enterotoxigénica (ETEC), es una de las enfermedades porcinas más importantes desde el punto de vista económico (Trckova *et al.*, 2014). Owusu-Asiedu *et al.* (2003) indican que la diarrea representa el 11% de la mortalidad posdestete en lechones.

Para controlar el efecto producido por la baja digestibilidad de proteína, dada por la inmadurez del tracto gastrointestinal del lechón, es necesario que las fuentes proteicas incluidas en la dieta tengan una elevada digestibilidad para lograr que se reduzca la llegada de nutrientes sin digerir al último segmento del aparato digestivo evitando que haya sustratos para la población microbiana patógena, y consecuentemente desencadenando el síndrome de diarrea posdestete (Gómez *et al.*, 2008).

La habilidad del lechón de ejercer sus funciones de digestión y absorción dependerán de la capacidad física del intestino, la naturaleza y la cantidad de secreciones que pueda proveer, como ácidos, enzimas, bicarbonato, bilis, el desarrollo de mecanismos para controlar dichas secreciones, y la capacidad de digestión y absorción de la superficie de la mucosa del intestino delgado (Campbell *et al.*, 2013). El tiempo que le lleva a un lechón en desarrollar esta capacidad, independientemente de la edad al destete, sexo y peso, es uno de los mayores limitantes afectando el desempeño después del destete (Pluske *et al.*, 2003).

2.1.1 Efectos en el tracto gastrointestinal al destete

El consumo de alimento sólido tiene un efecto tanto benéfico como dañino sobre el desarrollo del tracto gastrointestinal y páncreas del lechón, dependiendo del origen del alimento ingerido y la composición de la dieta. El efecto benéfico es que el consumo es un estimulador del desarrollo respecto a la mucosa gástrica, páncreas y flora bacteriana no patógena y, por otro lado, es hostil debido a las alteraciones estructurales que sufre la mucosa del intestino delgado y al desarrollo de una flora microbiana patógena (Reis de Souza *et al.*, 2012).

El intestino delgado sufre cambios en la arquitectura de las vellosidades y las criptas, así como reducciones en la actividad específica de las enzimas y la capacidad de absorción, después del destete (Campbell *et al.*, 2013). El mantenimiento de la altura

de las vellosidades y la profundidad de las criptas después del destete, puede lograrse estimulando a los lechones a comer lo más pronto posible después del destete (Reis de Souza *et al.*, 2012).

La microbiota del tracto gastrointestinal tiene una importante influencia en la nutrición del huésped, estimulación inmune y protección contra patógenos. Perturbaciones en la estabilidad de la población microbiana del intestino dispone al huésped a trastornos entéricos, invasión patógena y enfermedad. Las poblaciones microbianas asociadas a la mucosa del tracto gastrointestinal están en contacto íntimo con la capa externa de moco (Kelly *et al.*, 2017).

2.2 ANTIBIÓTICOS EN LA ALIMENTACIÓN DE CERDOS

Desde su descubrimiento, los antibióticos se han utilizado en la industria de alimentación animal como promotores del crecimiento o como tratamiento y prevención de enfermedades infecciosas (Yoon *et al.*, 2014). Sin embargo, hay un gran interés en desarrollar el manejo y estrategias de alimentación para estimular el desarrollo del intestino y la salud en lechones recién destetados (de Lange *et al.*, 2010) como alternativa al uso de antibióticos dado el aumento de las bacterias resistentes a los fármacos y la prohibición de los antibióticos promotores del crecimiento (Yoon *et al.*, 2014). De acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-004-ZOO-1994, la aplicación de antibióticos en concentraciones subterapéuticas para mejorar la conversión alimenticia o como promotores de crecimiento en los animales, conlleva el riesgo de poner en peligro la vida del consumidor de los productos de origen animal o la salud de éste, ya sea por una reacción de hipersensibilidad, un efecto específico o por el desarrollo y transmisión de organismos patógenos resistentes a la terapia con antibióticos. Aunque su modo de acción no ha sido totalmente esclarecido, se sabe que los antibióticos modifican la composición y la actividad de la microbiota intestinal, incluidas las bacterias patógenas y comensales, las cuales compiten por los nutrientes con el animal hospedero; de hecho, el mejoramiento en el desarrollo se puede deber a una combinación de microbiota intestinal total reducida y eliminación de bacterias nocivas (Heo *et al.*, 2013).

Esta situación que en los últimos años ha suscitado innumerables controversias sobre aspectos de salud pública por la propagación de la resistencia a los antimicrobianos, tanto en animales como en humanos, se dirige principalmente al uso excesivo e indebido de los antimicrobianos en animales (Ardoino *et al.*, 2017). En 1997, la Organización Mundial de la Salud recomendó prohibir el uso de antibióticos para promover el crecimiento de los animales (SENASICA, 2004) y, en la Unión Europea se prohibió el uso de antibióticos como promotores de crecimiento en dietas para cerdos y producción de ganado el 1 de enero de 2006 (Heo *et al.*, 2013). Al momento, se ha permitido solamente el uso de cuatro antibióticos promotores de crecimiento en la alimentación animal en la Unión Europea: avilamicina, flavofosfolipol, monencina sódica y salinomicina sódica; los cuales son medicamentos cuyos principios activos no se usan en medicina humana (SENASICA, 2004; Ardoino *et al.*, 2017). También existe un interés continuo en minimizar o eliminar por completo la inclusión de antibióticos en el ganado en otras partes del mundo (Heo *et al.*, 2013). En particular, se proporcionan antibióticos en el alimento a lechones recién destetados y transportados para reducir la carga de patógenos y promover el crecimiento mediante la prevención de enfermedades subclínicas y clínicas (Heo *et al.*, 2013; Johnson y Lay, 2017). Por lo tanto, es probable que haya una mayor demanda en el mercado internacional de carne de cerdo que se haya producido sin antibióticos en los piensos (Heo *et al.*, 2013).

Consecuentemente, se ha hecho necesario el desarrollo de programas de alimentación que sirvan como un medio para controlar los problemas asociados con la transición del destete sin utilizar compuestos antimicrobianos, enfocados en estrategias nutricionales que se sabe que mejoran la estructura y funcionamiento del tracto gastrointestinal y/o promuevan el crecimiento posdestete (Heo *et al.*, 2013).

2.3 ALIMENTOS FUNCIONALES PARA LECHONES DESTETADOS

Debido a los cambios que ocurren en los lechones en el destete, la utilización de compuestos diferentes a los antibióticos, puede mejorar la producción de cerdos al reducir los problemas gastrointestinales y evitar la reducción de la capacidad digestiva del lechón al destete, propiciados por el estrés y por el cambio en la consistencia de la

dieta, lo que evitaría la reducción de la altura de las vellosidades intestinales, y por tanto un mayor aprovechamiento del alimento. Esto mismo permitiría que la flora intestinal continúe cumpliendo su función benéfica y reguladora, suministrando la estabilidad necesaria para que el crecimiento del lechón se realice de forma normal (Figuroa *et al.*, 2006).

Un alimento funcional es aquel cuyos componentes influyen sobre una o varias funciones del organismo y originan un efecto positivo sobre la salud (Figuroa *et al.*, 2006). Un componente alimenticio funcional puede ser un macronutriente si tiene efectos fisiológicos específicos o un micronutriente si su ingesta es más que las recomendaciones diarias. También puede ser un componente alimenticio que, aunque tenga algún valor nutritivo, no sea esencial. De hecho, más allá de su valor nutricional y función de proporcionar algún efecto, una dieta provee al consumidor componentes capaces de modular las funciones del cuerpo y de reducir el riesgo de algunas enfermedades (Roberfroid, 2000).

Se han documentado varios hallazgos de investigación sobre el uso de sustancias metabólicamente activas como alternativas a los antibióticos promotores del crecimiento. En este sentido, se supone que los péptidos antimicrobianos (AMPs) son candidatos ideales debido a sus propiedades antimicrobianas, amplio espectro de actividad y baja propensión al desarrollo de resistencia bacteriana. Los AMPs son pequeños péptidos codificados con genes que muestran una amplia gama de actividad contra bacterias gram positivas y gram negativas, hongos y micobacterias (Yoon *et al.*, 2013). Según Wang *et al.* (2016) los péptidos antimicrobianos ejercen múltiples actividades antimicrobianas que pueden proveer una estrategia para prevenir que las bacterias desarrollen resistencia; además, pueden conferir protección por mecanismos alternos, como el mantenimiento de la homeostasis normal del intestino y modulación de la respuesta inflamatoria del huésped. Estos autores reportan un rendimiento mejorado de crecimiento, reducción de bacterias intestinales patógenas y enriquecimiento bacterias intestinales benéficas en dietas para lechones recién destetados suplementadas con AMPs.

Estudios previos también han reportado efectos positivos de AMPs derivados de la papa (*Solanum tuberosum*) en el desempeño de lechones destetados (Yoon *et al.*,

2013). Jin *et al.* (2008) reportaron una mayor retención de nutrientes en dietas para lechones suplementados con AMPs derivadas de la papa. El efecto promotor de crecimiento de los AMPs ha demostrado estar relacionado con la mejora en la digestibilidad de los nutrientes y la salud intestinal, alterando positivamente la microbiota intestinal y mejorando la función inmune en cerdos (Wang *et al.*, 2016).

2.4 FUENTES DE PROTEINA EN LA ALIMENTACIÓN DE LECHONES

Las proteínas dietéticas suministran aminoácidos, los cuales son nutrientes esenciales utilizados por el cuerpo. Cuantitativamente, la proteína es un nutriente costoso en las dietas de los cerdos y su conversión en tejidos animales requiere la digestión, la absorción y el metabolismo de los aminoácidos derivados. La adecuación y calidad de la proteína de la dieta depende de la capacidad de la proteína para proporcionar aminoácidos en cantidades y proporciones correctas (NRC, 2012).

La calidad de la fuente de proteína incluida en la dieta para lechones destetados ejerce un papel muy importante en el desarrollo del tracto gastrointestinal de los lechones. Hay dos tipos de fuentes de proteína dependiendo de su origen: animal o vegetal. Las fuentes de proteína de origen animal, se utilizan principalmente en la etapa del destete, ya que tienen un alto contenido de proteína, valor biológico y digestibilidad, además de que carece de factores antinutricionales (Reis de Souza *et al.*, 2012).

2.4.1 Pasta de Soya

La fuente de proteína de origen vegetal en la alimentación de cerdos consta principalmente de pasta de soya, ya que esta aporta un perfil de aminoácidos excelente y un costo económico (Reis de Souza *et al.*, 2012).

La pasta de soya es considerada como una de las fuentes de proteína más digestibles de origen vegetal utilizadas comúnmente en la alimentación de ganado (Rist *et al.*, 2014). La soya es la fuente de proteína más utilizada en la alimentación de cerdos por su perfil de aminoácidos, ya que el balance de aminoácidos en la proteína de soya es un complemento de aminoácidos en la mayoría de los granos de cereal, lo que resulta en un equilibrio completo en dietas formuladas (Pedersen *et al.*, 2016). Además, el precio

razonable y el suministro constante son también factores favorables de la soya siendo una fuente muy importante de proteína en la nutrición animal (Bajpai *et al.*, 2005); aunque contiene algunos factores antinutricionales como inhibidores de tripsina, proteínas antigénicas, lectinas, y fitatos que reducen la tasa de crecimiento y la digestibilidad de nutrientes (Gilani *et al.*, 2005; Gilani *et al.*, 2012; Berrocoso *et al.*, 2013), por lo que limita su uso en la alimentación de lechones (Aguilera *et al.*, 2012).

Los inhibidores de tripsina son uno de los factores antinutricionales más importantes en la pasta de soya, los cuales causan retraso en el crecimiento y enfermedades metabólicas y digestivas (Bajpai *et al.*, 2005; Coscueta *et al.*, 2016). Se ha reportado que la digestibilidad tanto de proteína como de aminoácidos se ve afectada negativamente en animales por la presencia de inhibidores de tripsina en la soya. La digestibilidad verdadera de proteína de una dieta con pasta de soya es considerablemente más baja (78%) que una dieta control de caseína (93%) respectivamente (Gilani *et al.*, 2005). El tratamiento térmico de la soya en el proceso de producción de la harina de soya elimina una gran parte del inhibidor de tripsina (Pluske *et al.*, 2007).

Las proteínas antigénicas, glicinina y β -conglucina, pueden dar lugar a alteraciones en las respuestas de hipersensibilidad tales como el aumento de la división de las células de las criptas y la aparición de enterocitos inmaduros en las vellosidades, resultando en una disminución en la capacidad de digestión y absorción ocasionadas por una atrofia de vellosidades de la mucosa del intestino delgado, así como un aumento de la susceptibilidad a las enterotoxinas (Pluske *et al.*, 2007).

Los taninos son compuestos polifenólicos que poseen la habilidad de precipitar proteínas en soluciones acuosas. En dietas para animales monogástricos, los taninos pueden reducir la digestibilidad de proteínas, carbohidratos y minerales, disminuyendo la actividad de las enzimas digestivas y causando daño a la mucosa del tracto digestivo (Gilani *et al.*, 2005).

La pasta de soya también contiene varias isolectinas hemaglutinantes. Su presencia en la dieta reduce la tasa de crecimiento de animales monogástricos jóvenes (Bajpai *et al.*, 2005).

2.4.2 Concentrado de proteína de papa

El concentrado de proteína de papa es una fuente de inclusión en fórmulas lácteas y en alimentos de iniciación de lechones, siendo ésta una de las fuentes vegetales más utilizadas y con elevada digestibilidad (FEDNA, 2016). El concentrado de proteína de papa es considerado como una fuente valiosa de proteína con un alto contenido de aminoácidos esenciales, los cuales pueden reemplazar la proteína animal en dietas de lechones (Tuśnio *et al.*, 2011). La proteína de papa presenta un perfil de aminoácidos muy balanceado y es especialmente rica en lisina, metionina, treonina, triptófano y valina (Froidmont *et al.*, 2009). El concentrado de proteína de papa es digerido en el intestino delgado con una eficiencia similar o mayor que las proteínas altamente digestibles de origen animal y vegetal (Tuśnio *et al.*, 2011). El concentrado de proteína de papa es un coproducto del proceso de extracción del almidón obtenido por la termorregulación de la proteína del jugo sobrante después de la extracción del almidón, y posterior a la separación y secado hasta alcanzar una concentración del 75 al 80% de proteína cruda (FEDNA, 2016).

La papa (*Solanum tuberosum*) es comúnmente cultivada para consumo humano en todo el mundo y se sabe que tiene propiedades antimicrobianas y antimicóticas (Jin *et al.*, 2008). Se ha aislado un péptido de 5.6 kDa de los tubérculos de papa, llamado potamin-1 (PT-1), el cual inhibe el crecimiento *in vitro* de bacterias patógenas (*Staphylococcus aureus*, *Salmonella gallinarum* y *Escherichia coli*) a concentraciones entre 300 a 500 mg/kg y cuando se incluye en la dieta de cerdos destetados mejora su rendimiento y también reduce la población de coliformes fecales (Ohh *et al.*, 2009). Otro péptido aislado de la papa *Solanum tuberosum* es Snakin-1 (StSN1), el cual es un péptido antimicrobiano con un peso molecular de 6,922 Da, rico en cisteína de amplio espectro. Su potencial biotecnológico ya ha sido reconocido, ya que muestra actividad antibacteriana y antimicótica. StSN1 ejerce una fuerte actividad antimicrobiana contra los fitopatógenos y los patógenos animales. En 2008, se demostró que las plantas de papa transgénicas que sobreexpresan el gen StSN1 son tolerantes a enfermedades causadas por patógenos de gran importancia comercial (Almasia *et al.*, 2017).

Los lechones alimentados con concentrado de proteína de papa con 3 a 5% en la dieta tienen un rendimiento de crecimiento satisfactorio, pero una mayor adición en la dieta, disminuye el consumo de alimento y la tasa de crecimiento. Los efectos negativos de concentrado de proteína de papa han sido atribuidos a los glicoalcaloides solanina, ya que en estudios previos los lechones han tolerado mayores cantidades de concentrado de proteína de papa con bajas concentraciones de glicoalcaloides que con altas concentraciones, aparte estos deprimen la ingesta del alimento y el rendimiento del crecimiento debido a su sabor amargo (Tuínio *et al.*, 2011).

En un estudio realizado por Machado (2016), se realizaron pruebas de desempeño zootécnico, la incidencia y la severidad de las diarreas posdestete, peso relativo de los órganos digestivos, pH de los contenidos de compartimientos del tracto gastrointestinal, actividad total de la tripsina y morfología intestinal, utilizando una dieta con concentrado de proteína de papa sin antibiótico. Como resultado de acuerdo al desempeño zootécnico no hubo una diferencia significativa entre la dieta control (pasta de soya con antibiótico) y la dieta con concentrado de proteína de papa. También se concluyó que el concentrado de proteína de papa mejora la salud intestinal y se recomienda su uso como alternativa en el control de diarreas, así como para mejorar el desempeño productivo de los lechones recién destetados.

2.4.3 Plasma porcino

El plasma animal es un subproducto de matadero obtenido a partir de sangre. La fracción celular de la sangre es separada por centrifugación con el uso de un anticoagulante. El plasma es entonces concentrado por evaporación al vacío o por filtración con membranas osmóticas inversas o ultrafiltración y es deshidratado (Torrallardona, 2010). El plasma es un líquido traslucido ligeramente alcalino, con pH de 7.4, que está constituido por un 90% de agua y contiene alrededor de 7.2% de proteína.

La adición de plasma porcino deshidratado a las dietas ha revolucionado la alimentación en los lechones recién destetados (de Lange *et al.*, 2010). El plasma animal es una fuente proteica comparable por su calidad a la leche descremada y superior a la harina de sangre por que contiene casi solo proteínas plasmáticas (albuminas y globulinas en un 95%) cuya digestibilidad es mayor a la de las proteínas intracelulares

(FEDNA, 2016). Las proteínas plasmáticas del cerdo constituyen una notable fuente proteica y de aminoácidos esenciales, principalmente de leucina y lisina; sin embargo, por ser deficiente en isoleucina debe ser utilizado junto con otras proteínas que puedan suplementarla (Julio *et al.*, 2013). Se ha sugerido que sus efectos benéficos están relacionados con su contenido de inmunoglobulinas (Torrallardona, 2010).

El plasma está compuesto por proteínas, minerales y agua. Las proteínas constituyen la fracción más importante; 95% de estas son albúminas y globulinas. Las albúminas son proteínas que tienen como función el mantenimiento de la presión osmótica del plasma y la provisión de capacidad amortiguadora de la sangre. Entre las globulinas, las gamma globulinas tienen una función inmune, de las cuales la IgG son las fracciones funcionales más importantes del plasma sanguíneo. Los otros tipos, IgM, IgA, IgD e IgE se encuentran más bajos en el plasma sanguíneo. El contenido de proteína en plasma está entre 70 y 80% dependiendo de los procesos tecnológicos aplicados durante su producción. Las fuentes de plasma concentradas por ultrafiltración tienen una concentración más alta que esas que fueron concentradas por osmosis reversa o secado al vacío (Torrallardona, 2010).

El uso de plasma porcino en dietas de lechones recién destetados precozmente tiene efectos benéficos sobre la función de barrera intestinal, inflamación y diarrea (Peace *et al.*, 2011), promueve el control pasivo a la infección por *Escherichia coli* enterotoxigénica, además de que mejora el consumo de alimento y la ganancia de peso, especialmente cuando se usan dietas vegetales (Valencia y Serrano, 2006). Además, algunos estudios con lechones destetados y ratones han demostrado que el plasma dietario no solo mejora la eficiencia de la conversión alimenticia, sino que específicamente mejora la retención de nitrógeno, lo cual implica un incremento en la eficiencia de la utilización de la proteína dietaria (ganancia de peso por unidad de consumo de proteína). La alimentación con plasma animal deshidratado reduce las concentraciones circulantes de urea, arginina, citrulina y ornitina (Jiang *et al.*, 2000).

El mecanismo por el cual el plasma animal ejerce sus beneficios está centrado en su habilidad de modular la función inmune intestinal asociado a tejido linfoide y placas

de Peyer. La inclusión de plasma porcino en dietas para lechones recién destetados mejora la disfunción de la barrera intestinal, inflamación y diarrea (Peace *et al.*, 2011).

La inclusión de plasma porcino en la dieta para iniciación de lechones, mejora el consumo, crecimiento diario e índice de conversión. El plasma porcino es una fuente de aminoácidos disponibles, mejora la palatabilidad de la dieta y suministra al lechón un alto porcentaje de inmunoglobulinas activas, aumentando las defensas del animal ante microorganismos patógenos (Gatnau *et al.*, 1995).

Torrallardona (2010) menciona que los efectos benéficos del plasma resultan de un incremento asociado al consumo de alimento, mientras que otros, que son el resultado de la acción de sus componentes bioactivos específicos. En lechones destetados, el consumo de alimento ha mostrado estar cercanamente relacionado con la integridad de la mucosa intestinal. El plasma animal deshidratado incrementa la altura de las vellosidades principalmente en las primeras dos semanas posteriores al destete. La hipótesis más aceptada sobre el modo de acción del plasma es que el contenido de sus inmunoglobulinas es biológicamente activo contra patógenos y enterotoxinas. Las inmunoglobulinas mantienen su actividad biológica después de procesar el plasma; pueden alcanzar el intestino proximal de lechones recién destetados sin ser digeridas, preservando su habilidad de unirse a bacterias y virus. Las IgG se unen a los virus o bacterias, evitando su unión con los enterocitos y previniendo la colonización y daño de la pared intestinal.

2.5 DIGESTIBILIDAD DE LOS ALIMENTOS

Según la bibliografía citada anteriormente, el uso de alimentos funcionales en la alimentación de lechones debe conducir a una mejora del ambiente gastrointestinal e incrementar la capacidad digestiva de los animales recién destetados y por ende la digestibilidad de los nutrimentos.

El proceso digestivo es un conjunto de fenómenos cuyo objetivo es proporcionar nutrimentos al animal no rumiante, 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 (Parra y Gómez, 2009). La digestibilidad dada la definición anterior es la proporción del alimento que no es excretada y que se supone, por lo tanto, ha sido absorbida (Reis de Souza y Mariscal, 1997). Regularmente se expresa en relación con la materia seca, como coeficiente o como porcentaje (McDonald *et al.*, 2010). La fórmula general para el cálculo de los coeficientes de digestibilidad (CD) es:

$$CD = [(Nutriente consumido - Nutriente excretado) / Nutriente consumido] \times 100$$

Los nutrimentos excretados pueden ser determinados en el contenido ileal (digestibilidad ileal) o en las heces (digestibilidad fecal) (Parra y Gómez, 2009).

Las pruebas de digestibilidad se utilizan para evaluar las fracciones de los nutrientes de una dieta o un alimento que son absorbidos en el tracto gastrointestinal. Debido a la importancia que tiene la determinación de la digestibilidad, se han desarrollado diferentes métodos para valorar el nivel de aprovechamiento, el efecto en el desempeño y salud del animal, de algún ingrediente en particular o de una dieta balanceada (Osorio *et al.*, 2012).

La digestibilidad fecal puede estimarse indirectamente a partir de las concentraciones relativas en el alimento y las heces, de alguna sustancia indigestible, llamada marcador. El marcador puede ser algún componente natural del alimento o alguna sustancia química que se mezcla con el mismo. Para los animales monogástricos, se puede utilizar dióxido de titanio (TiO₂) (McDonald *et al.*, 2010).

El TiO₂ ha sido el marcador utilizado como alternativa al uso común de óxido de cromo (Cr₂O₃) como marcador de digestibilidad. El TiO₂ ofrece ventajas sobre el Cr₂O₃ en que puede ser agregado legalmente a las dietas para animales, y además que carece de propiedades potencialmente carcinogénicas (Myers *et al.*, 2004).

En las determinaciones de digestibilidad, el alimento o las dietas experimentales se administran a los animales en cantidades conocidas, determinándose la excreción fecal. Se emplean varios animales debido a que los animales, aunque sean de la misma especie, edad y sexo, presentan pequeñas diferencias en su capacidad digestiva y, por

que las repeticiones permiten detectar los posibles errores en las determinaciones (McDonald *et al.*, 2010).

La digestibilidad, independientemente del material excretado por el animal, se puede nombrar de las siguientes maneras:

- Digestibilidad aparente
- Digestibilidad verdadera
- Digestibilidad estandarizada (McDonald *et al.*, 2010).

2.5.1 Digestibilidad aparente

La definición de digestibilidad aparente toma en cuenta tanto los residuos de alimentos no absorbidos como los componentes de las heces que son de origen endógeno provenientes de enzimas, células epiteliales, células microbianas, metabolitos, entre otros (Osorio *et al.*, 2012). El término aparente se utiliza para evidenciar que no se ha realizado ninguna corrección de pérdidas endógenas en el cálculo de digestibilidad (Stein *et al.*, 2007; Mariscal *et al.*, 2009).

El método para determinar la digestibilidad aparente utilizando un marcador, proporciona una estimación de la digestibilidad de los nutrientes sin necesidad de conocer ni el consumo total del alimento ni el total del excremento arrojado (Mariscal *et al.*, 2009).

2.5.2 Digestibilidad verdadera

La digestibilidad verdadera se define como aquella en la que se sustraen del cálculo las pérdidas endógenas, a partir de una determinación de las pérdidas endógenas en el mismo experimento (Mariscal *et al.*, 2009; Stein, 2017). Anteriormente recibía el nombre de digestibilidad real (Mariscal *et al.*, 2009). Los valores obtenidos en la digestibilidad ileal verdadera, los aminoácidos no discriminan entre las pérdidas endógenas basales y específicas de los ingredientes, y estos valores, por lo tanto, no son ideales para la formulación de dietas prácticas (Stein, 2017).

2.5.3 Digestibilidad estandarizada

La digestibilidad estandarizada se define como aquella en la que se sustraen del cálculo las pérdidas endógenas, utilizando un valor endógeno de referencia (Mariscal *et al.*, 2009).

Se han generado estimaciones de la digestibilidad ileal estandarizada (SID) para la mayoría de los ingredientes de los alimentos en cerdos en fase de crecimiento, y se dispone de pocos valores SID para los lechones. Los cerdos tienen una capacidad limitada para la digestión de proteínas y la absorción de aminoácidos principalmente en las primeras semanas después del destete (Aguilera *et al.*, 2015).

La inclusión de proteínas vegetales en los sustitutos de leche, frecuentemente causa cambios en la digestión, que incluyen disminución de la digestibilidad de los nutrientes. La proteína vegetal tiene una digestibilidad afectada debido a factores antinutricionales, pero también debido a las fracciones de proteínas con baja digestibilidad (Montagne *et al.*, 2001).

Las pérdidas endógenas basales asociadas con el funcionamiento normal del intestino se consideran pérdidas inespecíficas. Son independientes de la composición de la dieta, pero varían con el consumo de materia seca. Se ha demostrado que las pérdidas endógenas totales aumentan con la inclusión de algunos componentes dietéticos, como fibra y factores antinutricionales. La diferencia entre las pérdidas totales y las inespecíficas se ha denominado pérdidas específicas. Son el resultado de las interacciones entre los componentes de la dieta y el intestino. Un aumento en las pérdidas endógenas, debido a la presencia de pérdidas específicas, podría implicar un mayor recambio de proteína intestinal y consecuentemente mayores requerimientos de aminoácidos y energía (Montagne *et al.*, 2001).

Las pérdidas endógenas se pueden medir por varios métodos. Un método para determinar las pérdidas endógenas de proteína es dar al animal una dieta libre de proteína y medir el contenido del nutriente en las heces, lo que representa la pérdida endógena. El otro método común usado es ofrecer niveles dietéticos graduados del

nutriente evaluado y después realizar una regresión para estimar las pérdidas endógenas (Marx *et al.*, 2018).

2.5.4 Tipos de digestibilidad

Como se mencionó anteriormente, el sitio de la muestra excretada determina el tipo de digestibilidad a determinar. La digestibilidad fecal o total es cuando se colectan heces, y la digestibilidad ileal cuando se obtiene el contenido del íleon antes de la válvula íleo- cecal (Parra y Gómez, 2009).

2.7.4.1 Digestibilidad ileal

La digestibilidad ileal tiene como propósito aumentar la exactitud en la determinación del aporte de los nutrimentos para lograr más eficiencia en la formulación de raciones para animales domésticos (Parra y Gómez, 2009). Los estudios de digestibilidad ileal son realizados para poder determinar si algún componente de la dieta, como proteína cruda y aminoácidos, han sido aprovechados por el animal (Montagne *et al.*, 2001). En el intestino grueso, las proteínas y los aminoácidos son sintetizados o degradados por la actividad microbiana, por lo cual, la disponibilidad de los aminoácidos de la dieta para el animal se determina de manera más precisa midiendo la digestibilidad en el extremo terminal del intestino delgado en vez de hacerlo en las heces (Stein, 2017). Se han utilizado diferentes métodos para muestreo de digesta ileal, principalmente por medio de cirugía, para la implantación de una cánula (Parra y Gómez, 2009; NRC, 2012). La colocación de una cánula-T en la parte final del íleon permite recolectar y analizar el alimento en digestión antes de que quede expuesto a la actividad microbiana de las bacterias del intestino grueso y proporciona un valor más preciso de la digestibilidad de los aminoácidos de la dieta (Stein, 2017).

Las técnicas quirúrgicas que permiten la colecta del contenido ileal en lechones son aplicables a partir de la tercera semana de vida (Reis de Souza y Mariscal, 1997).

2.5.4.2 Digestibilidad fecal o total

Reis de Souza y Mariscal (1997) definen a la digestibilidad total como una expresión que no toma en cuenta la actividad microbiana que se lleva a cabo en el

intestino grueso, que puede enmascarar la absorción llevada a cabo en el intestino delgado, resultando en una sobre o subutilización de los nutrimentos.

La validez del método de análisis fecal para la determinación de la digestibilidad de aminoácidos es continuamente cuestionada, en parte por las secreciones de proteína endógena en el tracto digestivo, y en parte por la presencia de microorganismos en el intestino grueso, ya que dichos microorganismos pueden influenciar el metabolismo de proteína y confundir la determinación de la digestibilidad aparente de los aminoácidos (Just *et al.*, 1980).

III. HIPÓTESIS

La adición de fuentes de proteínas funcionales como el plasma porcino o concentrado de proteína de papa en dietas libres de antibiótico, así como la presencia de antibiótico en la dieta en una dieta con pasta de soya incrementará la digestibilidad de los nutrimentos en lechones recién destetados.

IV. OBJETIVOS

4.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto del antibiótico, pasta de soya, concentrado de proteína de papa y de plasma porcino sobre la digestibilidad ileal y fecal de la materia seca, proteína y energía en lechones destetados.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Los objetivos específicos fueron determinar en lechones destetados:

1. La digestibilidad ileal aparente de materia seca y proteína cruda.
2. La digestibilidad fecal aparente de materia seca, proteína cruda y energía.
3. La digestibilidad ileal estandarizada de proteína cruda.

V. MATERIAL Y MÉTODOS

5.1 LOCALIZACIÓN

El experimento se realizó en las instalaciones de la granja experimental del Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Fisiología y Mejoramiento Animal del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (CENIDFyMA, INIFAP, Ajuchitlán, Querétaro). Los análisis de las muestras se realizaron en el laboratorio de Nutrición Animal de la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad Autónoma de Querétaro. El protocolo fue aprobado por el comité de bioética de la Universidad Autónoma de Querétaro.

5.2 ANIMALES

Se utilizaron 24 lechones (dos bloques de 12 lechones cada uno) destetados a los 17.3 ± 0.90 días de vida con un peso de 5.7 ± 0.59 kg, siendo posteriormente trasladados a la unidad metabólica donde fueron alojados en jaulas individuales de metabolismo, metálicas, elevadas a 0.70 m del piso y con las siguientes medidas: 0.60 x 0.72 x 0.45 m de altura, largo y ancho, respectivamente. Las jaulas se localizaron en un cuarto con temperatura controlada, la cual fluctuaba entre 28 y 30 °C. Las jaulas estuvieron provistas de un comedero y un bebedero de chupón, charolas para colecta de heces y orina por separado. Las jaulas constaban de barras laterales que permitieron que los lechones tuvieran contacto visual, disminuyendo el estrés por aislamiento. Entre los días 17 y 20 de edad fueron enseñados a tomar agua directo de los bebederos y a consumir alimento sólido (80% de leche deshidratada y 20% de almidón de maíz).

5.3 CANULACIÓN

A los 21 días de edad, los animales fueron sometidos a una cirugía para colocación de una cánula "T" (Figura 4) (Reis de Souza *et al.*, 2000). Se les tranquilizó con azaperona (1 ml /20 kg de peso por vía intramuscular) y se administró sulfato de atropina (por vía intramuscular); una vez tranquilizados, fueron rasurados en el flanco derecho y posteriormente anestesiados con Isoflurano (inducción con 3% y mantenimiento con 1.5%). Los animales fueron colocados en posición de decúbito lateral derecho y la zona quirúrgica se lavó con jabón quirúrgico y desinfectó con solución yodada. Se realizó una incisión en el ijar derecho; disecando cada uno de los planos

musculares. Una vez incidida la cavidad abdominal, se localizó el ciego y el ligamento íleo- cecal, como referencia para desplazarse de 5 a 10 cm hacia la porción ventral del intestino, donde se fijó la cánula. El íleon fue incidido longitudinalmente para colocar y fijar la cánula con una sutura en jareta (catgut crómico 3-0). El extremo craneal de la cánula se marcó con un plumón indeleble con el fin de que no fuera girada al extraerla. Se realizó una segunda incisión para exteriorizar la cánula en la parte superior del ijar derecho, procurando que la piel fije el cuerpo de la cánula. Se suturaron los planos quirúrgicos (peritoneo y músculo) con catgut crómico 3-0. La piel se suturó con vicryl 3-0. Se aplicó un tratamiento antimicrobiano con un antibiótico de amplio espectro (ceftiofur, 3 ml/ 50 kg de peso) y como analgésico se aplicó dipirona sódica (2 ml/25 kg de peso) durante tres días por vía parenteral. A partir del momento de recuperación y manifestación de hambre se dió la mezcla de almidón con leche; al segundo día post-cirugía, la dieta experimental se implementó gradualmente en un 20%, el tercer día 50%, el cuarto día 80% y el quinto día 100%, ofreciendo el alimento en tres horarios: 8:00 am, 1:00 pm y 5:00 pm.

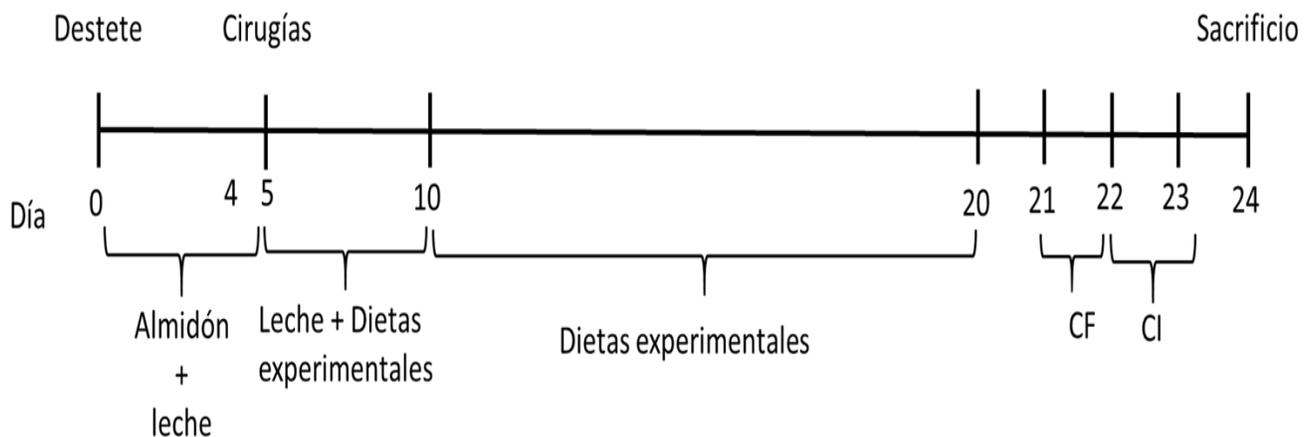


Figura 4. Esquema de actividades para prueba de digestibilidad (CF, colecta fecal; CI, colecta ileal).

5.4 DIETAS EXPERIMENTALES

Se evaluaron cuatro tratamientos experimentales los cuales fueron cuatro dietas balanceadas para cubrir los requerimientos de aminoácidos esenciales: 1. Dieta control

con pasta de soya (PS) con antibiótico; 2. Dieta con PS sin antibiótico; 3. Dieta con PS + plasma porcino (PP) sin antibiótico; y 4. Dieta con PS + concentrado de proteína de papa (CPP) sin antibiótico (Cuadro 1). Cada una de las dietas fue adicionada con dióxido de titanio como marcador de digestibilidad.

Cuadro 1. Composición química de las dietas experimentales.

Ingredientes (%)	PSAB	PS	PP	CPP
Maíz amarillo 7% PC	48.63	48.72	50.76	50.17
Pasta de soya 43	20.00	20.00	20.00	20.00
Concentrado de soya	11.84	11.84	5.40	6.23
Plasma porcino	-	-	5.00	-
Concentrado de proteína de papa	-	-	-	4.00
Lactosa	12.37	12.37	12.37	12.37
Maíz, Aceite	2.80	2.80	2.23	2.44
L-Lisina HCl	0.44	0.44	0.46	0.85
L-Treonina	0.11	0.11	0.09	0.10
DL-Metionina	0.20	0.20	0.20	0.20
L-Triptófano	0.01	0.01	0.01	0.02
Sal Común	0.50	0.50	0.50	0.50
Carbonato de calcio	0.75	0.75	0.94	0.74
Fosfato Bicálcico	1.77	1.77	1.54	1.84
Minerales ¹	0.12	0.12	0.12	0.12
Titanio	0.30	0.30	0.30	0.30
Vitaminas ²	0.08	0.08	0.08	0.08
Biocolina	0.04	0.04	0.04	0.04
Antibiótico ³	0.05	-	-	-
Composición química				
Materia seca (%)	91.34	90.77	91.72	91.86
Proteína cruda (%)	20.95	20.96	20.33	20.38
Extracto etéreo (%)	6.24	7.28	7.13	6.51
Fibra Detergente Neutro (%)	11.30	13.37	14.65	12.89
Energía metabolizable (Kcal/Kg)	3,300	3,300	3,300	3,300

PSAB= Pasta de soya con antibiótico, PS=Pasta de soya sin antibiótico, PP=Plasma porcino sin antibiótico, CPP= Concentrado de proteína de papa sin antibiótico.

¹Minerales por kg de alimento: manganeso 32.54 mg, zinc 120 mg, hierro 100 mg, cobre 12 mg, iodo 0.80 mg, selenio 0.25 mg, cobalto 0.60 mg.

²Vitaminas por kg de alimento: vitamina A 16,000,000 UI, vitamina D3 3,000,000 UI, vitamina E 80,000 mg, vitamina K3 4,000 mg, vitamina B1 4,000 mg, vitamina B2 14,000 mg, vitamina B6 6,000 mg, vitamina B12 60,000 mg, biotina 400,000 mg, ácido fólico 2,000 mg, niacina 70,000 mg, d-pantotenato de calcio 50,000 mg, antioxidante 200,000 mg.

³Lincospectin.

5.5. COLECTA FECAL

Las muestras de heces fueron colectadas una vez al día a las 8:00 am, los días 21 y 22 posdestete (Figura 4). En la parte inferior de las jaulas se encontraba una malla con un marco metálico, la cual permitía la separación de las heces. Para realizar la colecta, se sacó la charola y se colectaron las heces que no estuvieran contaminadas con alimento para no alterar los resultados. Las heces fueron depositadas en bolsas previamente rotuladas y fueron congeladas a -23°C , hasta la realización de los análisis químicos.

5.6. COLECTA ILEAL

La colecta ileal se realizó durante 8 horas, alternando una hora de colecta y una hora de descanso, los días 22 y 23 posdestete (Figura 4), iniciando a las 9:00 am cada día. El contenido se obtuvo en bolsas de 10 cm x 15 cm, las cuales contenían 2 ml de 0.2 N de HCl. Para obtener el contenido, se quitó la tapa de la cánula y se fijó la bolsa con una liga, cambiando las bolsas cada vez que se llenaran. El contenido de cada una de las bolsas fue depositado en botes previamente rotulados, y fueron puestos a congelación a -23°C hasta sus análisis químicos.

5.7 SACRIFICIO

El día 24 posdestete los animales se sacrificaron después de haber sido insensibilizados con CO_2 durante tres minutos y posteriormente se seccionó la vena yugular para desangrarlos. Se verificó la ausencia de fístulas que pudieran afectar los valores de digestibilidad.

5.8 ANÁLISIS QUÍMICOS

Las muestras de heces se descongelaron, se homogenizaron y se pusieron a secar en charolas de aluminio en una estufa a 55°C durante 48 horas. Posteriormente fueron molidas y colocadas en frascos previamente rotulados para su manejo. Las muestras de contenido ileal fueron descongeladas, se homogenizaron y se liofilizaron. Las muestras se colocaron en frascos para su posterior manejo. El contenido de materia seca (MS) se determinó por secado (AOAC, 2002); proteína cruda (PC) de acuerdo al

método de Kjeldahl (AOAC, 2002); energía bruta (En) por calorimetría (Bateman, 1970); dióxido de titanio de acuerdo al método de Myers *et al.* (2004) (Apéndice).

5.9 DETERMINACIÓN DE DIGESTIBILIDAD APARENTE ILEAL Y TOTAL

El coeficiente de digestibilidad aparente de las dietas experimentales se calculó utilizando la ecuación propuesta por Mariscal *et al.* (2009),

$$CDA = 1 - [(InD \times AF) / (AD \times InF)] \times 100$$

Donde, CDA es la digestibilidad aparente de MS, En y PC en las dietas (%); InD es la concentración del marcador en las dietas experimentales (mg/kg MS); AF es la concentración de MS, En y PC en la digesta ileal o heces (mg/kg MS); AD es la concentración de MS, En y PC en las dietas experimentales (mg/kg MS); e InF es la concentración del marcador en la digesta ileal o heces (mg/kg MS).

5.10 DETERMINACIÓN DE LA DIGESTIBILIDAD ILEAL ESTANDARIZADA

El coeficiente de digestibilidad ileal estandarizada de PC en las dietas experimentales fue calculado corrigiendo la digestibilidad aparente por la pérdida endógena ileal basal de PC, de acuerdo a la ecuación:

$$CDE = CDA + (P_{peb} / P_{con}) \times 100$$

Donde, CDE es el coeficiente de digestibilidad estandarizada de un nutriente. CDA es el coeficiente de digestibilidad aparente de ese nutriente. PC_{peb} es la cantidad de la pérdida endógena basal de la proteína (mg/kg MS), y PC_{con} es la cantidad de proteína consumida (mg/kg MS) (Mariscal *et al.*, 2009).

5.11 ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

En el experimento se utilizó un diseño de bloques al azar. Los resultados de la digestibilidad ileal y total aparente, y la digestibilidad ileal estandarizada, se analizaron por medio del procedimiento de modelos lineales generales (GLM) del paquete estadístico SAS (SAS, 2008). Para comparar las medias se empleó la prueba de media de cuadrados mínimos.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Digestibilidad ileal aparente

La digestibilidad ileal de la MS (DIAMS) no varió ($P>0.05$) entre las diferentes dietas (Cuadro 2). La digestibilidad ileal de la PC (DIAPC) de las dietas CPP y PSAB fue mayor ($P<0.05$) que la digestibilidad de las dietas PS y PP.

Cuadro 2. Digestibilidad ileal aparente de materia seca y proteína cruda de las dietas experimentales.

Variables	Dietas				P	EEM
	PSAB	PS	PP	CPP		
DIAMS	70.2	70.3	69.0	71.4	NS	0.42
DIAPC	78.4 ^a	72.5 ^b	71.3 ^b	77.8 ^a	P=0.0001	0.41

PSAB= Pasta de soya con antibiótico, PS=Pasta de soya sin antibiótico, PP=Plasma porcino sin antibiótico, CPP= Concentrado de proteína de papa sin antibiótico, DIAMS= Digestibilidad ileal aparente de materia seca, DIAPC= Digestibilidad ileal aparente de proteína cruda. NS= No significativo. ^{ab} Los valores con letras distintas en la misma fila son estadísticamente diferentes ($P<0.05$).

La adición de antibiótico a la dieta con pasta de soya incrementó en seis unidades porcentuales la digestibilidad ileal aparente de la PC (78.4 vs 72.5 %). Aunque el modo de acción de los antibióticos no ha sido elucidado completamente, se sabe que los antibióticos promotores de crecimiento modifican la composición y la microbiota intestinal incluyendo las bacterias patógenas y comensales. El mejoramiento en el desarrollo de los animales (Heo *et al.*, 2012), y probablemente en la digestibilidad, podría ser debido a una reducción de la biomasa de la biota intestinal y la eliminación de las bacteria dañinas. Investigaciones previas usando dietas con y sin la adición de antibiótico mostraron que la microbiota puede modificar la digestibilidad aparente de la proteína generalmente con una diferencia de cinco unidades porcentuales aproximadamente (Just *et al.*, 1980), lo que concuerda con los presentes resultados.

En un experimento realizado por Jeong *et al.* (2016), en donde se determinó la digestibilidad ileal aparente de materia seca, proteína y energía de dietas a base de pasta de soya, harina de pescado, plasma porcino deshidratado y pasta de soya fermentada

en lechones destetados con un peso de 10.00 ± 0.30 kg, se obtuvieron resultados de digestibilidad ileal aparente de materia seca de $82.9 \pm 1.4\%$ y $78.3 \pm 2.5\%$ de pasta de soya y plasma porcino deshidratado respectivamente. Para la digestibilidad ileal aparente de proteína de $83.6 \pm 2.5\%$ y $81.8 \pm 4.1\%$ de pasta de soya y plasma porcino deshidratado respectivamente, siendo mayores a los valores adquiridos en esta investigación. Esto puede ser debido a que el contenido de factores antinutricionales de la pasta de soya puede reducir e inhibir la disponibilidad de los nutrientes llevando a trastornos digestivos (Upadhaya y Kim, 2015; Yuan *et al.*, 2016), por lo cual el uso de pasta de soya como única fuente de aminoácidos en lechones destetados no es recomendada (Dunsford *et al.*, 1989).

En otro estudio realizado por Upadhaya y Kim (2015), donde proporcionaron dietas con diferentes tipos de pasta de soya a lechones destetados y se determinó la digestibilidad ileal aparente. Se obtuvieron valores de digestibilidad de materia seca y proteína cruda de 77.7% y 74.3% respectivamente, ligeramente mayores a los obtenidos en este experimento. Las diferencias entre los resultados, son debido probablemente por la variedad, las condiciones de crecimiento y procesamiento de la soya, las cuales pueden afectar la composición química y la calidad de su proteína (Li *et al.*, 2015), disminuyendo la digestibilidad de algunos nutrientes (Khattab y Arntfield, 2009).

El valor de digestibilidad ileal aparente de proteína del concentrado de proteína de papa obtenido en esta investigación (77.8%) es ligeramente mayor al valor reportado en el estudio realizado por Tusnio *et al.* (2011) (76.9%), donde determinaron el efecto del concentrado de proteína de papa y la fibra de papa sobre la digestibilidad ileal aparente en cerdos jóvenes en crecimiento. El concentrado de proteína de papa es digerido en el intestino delgado con una eficiencia similar o mayor que las proteínas de origen animal y vegetal altamente digestibles (Tusnio *et al.* 2011). Por otro lado, el porcentaje de digestibilidad ileal aparente de la proteína fue similar al valor (78.6%) obtenido por Jin *et al.* (2008), donde realizaron un experimento utilizando diferentes niveles de inclusión de concentrado de proteína de papa.

El porcentaje de digestibilidad ileal aparente de proteína de plasma porcino es un valor aproximado al obtenido en un experimento hecho por Bosi *et al.* (2001), en el cual se determinó el efecto de los diferentes tipos de plasma porcino sobre digestibilidad ileal, deposición de nutrientes, inmunidad y salud en lechones destetados a temprana edad.

De acuerdo a datos registrados en el NRC (2012), la digestibilidad ileal aparente de pasta de soya (81%), plasma porcino (76%) y concentrado de proteína de papa (85%), son mayores respecto a los resultados obtenidos en este experimento (72.5%, 71.3% y 77.8%), lo cual puede deberse a que el grado de maduración del tracto gastrointestinal de los lechones recién destetados es muy reducido, ya que tanto las secreciones digestivas y como la producción de enzimas necesarias para la digestión de los alimentos son muy bajas, por lo que la absorción y digestibilidad de los nutrimentos consumidos por el lechón son limitados (Reis de Souza *et al.*, 2012).

6.2 Digestibilidad total aparente

La digestibilidad de la materia seca, energía y proteína cruda de la dieta con pasta de soya, a pesar de que presentó valores ligeramente superiores, no fue afectada significativamente ($P > 0.05$) por la inclusión de antibiótico a la dieta. La digestibilidad total de MS y de En de la dieta CPP fue mayor ($P < 0.05$) que las dietas PSAB, PS y PP. La digestibilidad total de PC de la dieta CPP fue mayor ($P < 0.05$) a la dieta PS, pero similar ($P > 0.05$) a las dietas PSAB y PP (Cuadro 3).

Cuadro 3. Digestibilidad total aparente de materia seca, energía y proteína cruda de las dietas experimentales.

Variables	Dietas				P	EEM
	PSAB	PS	PP	CPP		
DTAMS	82.1 ^b	81.0 ^b	82.9 ^b	86.1 ^a	P=0.009	0.37
DTAEn	82.5 ^b	80.6 ^b	83.6 ^b	86.9 ^a	P=0.003	0.38
DTAPC	78.7 ^{ab}	75.9 ^b	79.6 ^{ab}	81.7 ^a	P=0.057	0.58

PSAB= Pasta de soya con antibiótico, PS=Pasta de soya sin antibiótico, PP=Plasma porcino sin antibiótico, CPP= Concentrado de proteína de papa sin antibiótico, DTAMS= Digestibilidad total aparente de materia seca, DTAEn= Digestibilidad total aparente de energía, DTAPC= Digestibilidad total aparente de proteína cruda. ^{a-b} Los valores con letras distintas en la misma fila son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$).

Tusnio *et al.* (2011) reportaron un valor de 83.8% de digestibilidad total de proteína de concentrado de proteína de papa en cerdos jóvenes en crecimiento, siendo un valor ligeramente mayor que el obtenido en esta investigación.

Jin *et al.* (2008) realizaron un experimento utilizando 280 lechones destetados a los 23 ± 3 días de edad. Se colocaron 14 animales por jaula y se distribuyeron en 5 diferentes tratamientos para investigar el efecto de la inclusión de diferentes niveles de concentrado de proteína de papa en las dietas sobre la digestibilidad total de MS y PC; también usaron un control positivo con antibiótico. Los valores obtenidos en su investigación de la dieta con concentrado de proteína de papa (80.53% de digestibilidad total de MS y 78.66% de digestibilidad total de PC) y del control positivo (83.94% de MS y 82.13% de PC) fueron ligeramente menores en comparación a los que se consiguieron dentro de este estudio, tanto del tratamiento con CPP como del control positivo. Esto puede deberse a que los lechones, una vez destetados, además del estrés debido a la separación de la madre, también fueron sometidos a un estrés por la formación de nuevos grupos de 14 animales por jaula, siendo que la convivencia entre los animales desconocidos puede provocar agresiones y peleas, lo cual tiene repercusiones sobre el consumo de alimento y como consecuencia afectando el crecimiento y la salud gastrointestinal reduciendo la digestibilidad de los nutrientes (Roldán *et al.*, 2013; Zhang *et al.*, 2014).

La información sobre digestibilidad total aparente, en general, es escasa, ya que la digestibilidad total no toma en cuenta la actividad microbiana que se lleva a cabo en el intestino grueso, lo cual puede encubrir la absorción que se lleva a cabo en el intestino delgado, por lo cual las medidas de digestibilidad ileal son más adecuadas para expresar la disponibilidad de la proteína cruda en el aparato digestivo de los lechones (Reis de Souza y Mariscal, 1997).

6.3 Digestibilidad ileal estandarizada

La digestibilidad ileal estandarizada de la PC de las dietas CPP y PSAB fue mayor ($P < 0.05$) que la digestibilidad de las dietas PS y PP (Cuadro 4).

Cuadro 4. Digestibilidad ileal estandarizada de proteína cruda de las dietas experimentales.

Variables	Dietas				P	EEM
	PSAB	PS	PP	CPP		
DIEPC	87.4 ^a	81.9 ^b	81.0 ^b	87.7 ^a	P=0.0001	0.40

PSAB= Pasta de soya con antibiótico, PS=Pasta de soya sin antibiótico, PP=Plasma porcino sin antibiótico, CPP= Concentrado de proteína de papa sin antibiótico, DIEPC= Digestibilidad ileal estandarizada de proteína cruda, P=Probabilidad, EEM= Error estándar de la media. ^{a-b} Los valores con letras distintas en la misma fila son estadísticamente diferentes ($P<0.05$). Valor de pérdida basal ileal de nitrógeno 3174 mg/Kg MS (Mariscal y Reis de Souza, 2006).

En una recopilación de datos sobre digestibilidad ileal estandarizada de proteína del concentrado de proteína de papa realizada por Pedersen y Boisen (2002), mostró que esta se encuentra entre 87% y 90%, estando el porcentaje obtenido en este experimento dentro del rango mencionado.

El NRC (2012) reporta valores de digestibilidad ileal estandarizada de pasta de soya (89%), plasma porcino (81%) y concentrado de proteína de papa (87%), los cuales son muy similares a los resultados obtenidos en esta investigación.

En el cálculo de la digestibilidad aparente sólo considera la cantidad de proteína que aparece en el material excretado. Sin embargo, se debe considerar que el contenido ileal está formado por una mezcla compuesta por el nitrógeno proveniente de la dieta y que no fue absorbido y por el nitrógeno de origen endógeno. Así, al realizar una corrección utilizando un valor endógeno de referencia o valor estándar (Mariscal *et al.*, 2009), los valores de digestibilidad ileal estandarizada fueron mayores a los porcentajes de digestibilidad ileal aparente (Figura 5).

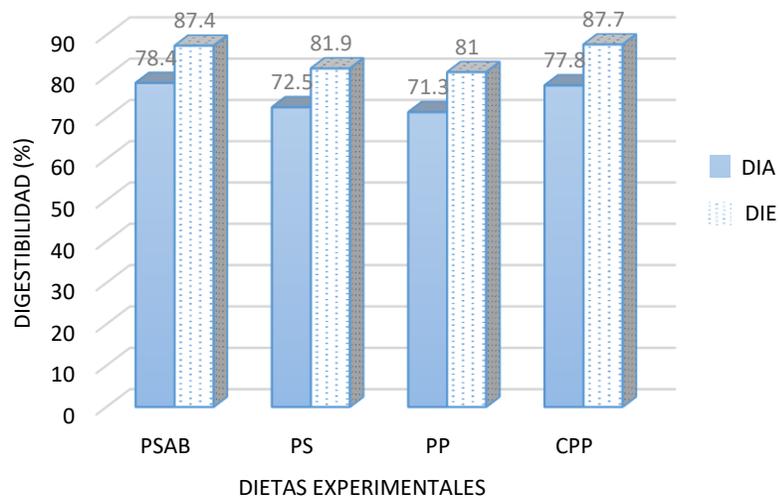


Figura 5. Digestibilidad ileal aparente (DIA) y digestibilidad ileal estandarizada (DIE) de PC de las dietas experimentales.

VIII. CONCLUSIONES

El uso de concentrado de proteína de papa en dietas libres de antibiótico tiene un efecto positivo sobre la digestibilidad ileal aparente y estandarizada de los nutrimentos.

El uso de concentrado de proteína de papa en dietas libres de antibiótico mejora el aprovechamiento de la materia seca y de la energía a nivel fecal.

El plasma porcino adicionado a una dieta sin antibióticos mostró ser menos digestible que el concentrado de proteína de papa sin antibiótico adicionado a la dieta y la pasta de soya sin antibiótico.

La adición de antibiótico a la dieta con pasta de soya mejora la digestibilidad ileal aparente y estandarizada de la proteína cruda de la pasta de soya.

VIII. LITERATURA CITADA

- Aguilera, A., Reis de Souza, T., Mariscal, G., Escobar, K., Montaña, S. y Bernal, M. G. (2015). Standardized ileal digestibility of proteins and amino acids in sesame expeller and soya bean meal in weaning piglets. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 99(4): 728–736.
- Aguilera, M., Reis de Souza, T., Mariscal, G., Sosa, A. y Aguilera, A. (2012). Digestibilidad de nutrimentos en lechones alimentados con dietas con aislado o concentrado de proteína de soya. *Rev. Mex. Cienc. Pecu.* 44(3): 301-311.
- Almasia, N., Molinari, M., Maroniche, G., Nahirñak, V., Barrios, M., Taboga, O. y Vazquez, C. (2017). Successful production of the potato antimicrobial peptide Snakin-1 in baculovirus-infected insect cells and development of specific antibodies. *BMC Biotechnol.* 17(1): 1–11.
- Ardoino, S., Toso, R., Alvarez, H., Mariani, E., Cachau, P., Mancilla, M. y Oriani, D. (2017). Antimicrobianos como promotores de crecimiento (AGP) en alimentos balanceados para aves: uso, resistencia bacteriana, nuevas alternativas y opciones de reemplazo. *Cienc. Vet.* 19(1):50-66.
- AOAC, 2002. *Official Methods of Analysis*. 17th ed. Association of Official Analytical Chemists. Arlington, VA.
- Bajpai, S., Sharma, A. y Gupta, M. (2005). Removal and recovery of antinutritional factors from soybean flour. *Food. Chem.* 89(4): 497-501.
- Bateman, J.V. 1970. *Nutrición animal. Manual de métodos analíticos*. Herrero Hnos., Sucesores, S.A. México. 269-280.
- Berrocoso, J., Serrano, M., Cámara, L., López, A. y Mateos, G. (2013). Influence of source and micronization of soybean meal on nutrient digestibility and growth performance of weanling pigs. *J. Anim. Sci.* 91(1): 309–317.
- Bosi, P., Han, I., Jung, H., Heo, K., Perini, S., Castellazzi, A., Casini, L., Creston, D. y Gremokolini, C. (2001). Effect of different spray dried plasmas on growth, ileal

- digestibility, nutrient deposition, immunity and health of early-weaned pigs challenged with *E. coli* K88. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.* 14(8): 1138-1143.
- Campbell, J., Crenshaw, J. y Polo, J. (2013). The biological stress of early weaned piglets. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 4(1): 19-23.
- Coscueta, E., Pintado, M., Picó, G., Knobel, G., Boschetti, C., Malpiedi, L. y Nerli, B. (2017). Continuous method to determine the trypsin inhibitor activity in soybean flour. *Food chem.* 214: 156-161.
- de Lange, C., Pluske, J., Gong, J. y Nyachoti, C. (2010). Strategic use of feed ingredients and feed additives to stimulate gut health and development in young pigs. *Livest. Sci.* 134(1–3): 124–134.
- Deplancke, B. y Gaskins, H. (2001). Microbial modulation of innate defense: goblet cells and the intestinal mucus layer. *Am. J. Clin. Nutr.* 73(6): 1131S-1141S.
- Dibner, J. y Richards, J. (2005). Antibiotic Growth Promoters in Agriculture: History and Mode of Action. *Poult. Sci.* 84(4): 634–643.
- DOF. Diario Oficial de la Federación. (2018). Estrategia Nacional de Acción contra la Resistencia a los Antimicrobianos. Disponible en: http://dof.gob.mx/nota_detalle_popup.php?codigo=5525043. [Consultado el 27-08-2018].
- Dunsford, B., Knabe, D. y Haensly, W. (1989). Effect of Dietary Soybean Meal on the Microscopic Anatomy of the Small Intestine in the Early-Weaned Pig 1. *J. Anim. Sci.* 67(7): 1855-1863.
- Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal, FEDNA. 2016. Plasma animal 78. Disponible en: http://www.fundacionfedna.org/ingredientes_para_piensos/plasma-animal-78. [Consultado el 04-09-16].
- Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal, FEDNA, 2016. Proteína de Patata- Aislado. Disponible en:

http://www.fundacionfedna.org/ingredientes_para_piensos/prote%C3%ADna-de-patata-aislado. [Consultado el 05-09-16].

- Figueroa, J., Chi, E., Cervantes, M. y Domínguez, I. (2006). Alimentos funcionales para cerdos al destete. *Vet. Méx.* 37(1): 1–21.
- Froidmont, E., Wathelet, B., Oger, R., Romne, J., Colinet, A., Cloet, D. y Bartiaux-Thill, N. (2009). Nutritional properties of potato protein concentrate compared with soybean meal as the main protein source in feed for the double-muscled Belgian Blue bull. *Animal*. 3(2): 200–208.
- Gatnau, R., Mateos, G. y Lázaro, R. (1995). Utilización de proteínas plasmáticas de origen porcino en dietas para lechones. XI Curso de Especialización FEDNA, 11:170-187.
- Gilani, G., Cockell, K. y Sepehr, E. (2005). Effects of antinutritional factors on protein digestibility and amino acid availability in foods. *J. AOAC. Int.* 88(3): 967-987.
- Gilani, G., Xiao, C. y Cockell, K. (2012). Impact of antinutritional factors in food proteins on the digestibility of protein and the bioavailability of amino acids and on protein quality. *Br. J. Nutr.* 108(2): 315-32.
- Gómez, A., Vergara, D. y Argote, F. (2008). Efecto de la dieta y edad del destete sobre la fisiología digestiva del lechón. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*. 6(1):32-41.
- Heo, J., Kim, J., Hansen, C., Mullan, B., Hampson, D. y Pluske, J. (2009). Feeding a diet with decreased protein content reduces indices of protein fermentation and the incidence of postweaning diarrhea in weaned pigs challenged with an enterotoxigenic strain of *Escherichia coli*. *J. Anim. Sci.* 87(9): 2833–2843.
- Heo, J., Opapeju, F., Pluske, J., Kim, J., Hampson, D. y Nyachoti, C. (2012). Gastrointestinal health and function in weaned pigs: A review of feeding strategies to control post-weaning diarrhoea without using in-feed antimicrobial compounds. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 97(2): 207–237.

- Jeong, J., Park, J., Lee, S. y Kim, I. (2016). Apparent ileal digestibility of nutrients and amino acids in soybean meal, fish meal, spray-dried plasma protein and fermented soybean meal to weaned pigs. *J. Anim. Sci.* 87(5): 697-702.
- Jiang, R., Chang, X., Stoll, B., Ellis, K., Shypailo, R., Weaver, E. y Burrin, D. (2000). Dietary plasma protein is used more efficiently than extruded soy protein for lean tissue growth in early-weaned pigs. *J. Nutr.* 130(8): 2016-2019.
- Jin, Z., Yang, Y., Choi, J., Shinde, P., Yoon, S., Hahn, T. y Chae, B. (2008). Potato (*Solanum tuberosum* L. cv. Gogu valley) protein as a novel antimicrobial agent in weanling pigs. *J. Anim. Sci.* 86(7): 1562–1572.
- Johansson, M., Ambort, D., Pelaseyed, T., Schtte, A., Gustafsson, J., Ermund, A. y Hansson, G. (2011). Composition and functional role of the mucus layers in the intestine. *Cell. Mol. Life. Sci.* 68(22): 3635–3641.
- Johnson, J. y Lay, D. (2017). Evaluating the behavior, growth performance, immune parameters, and intestinal morphology of weaned piglets after simulated transport and heat stress when antibiotics are eliminated from the diet or replaced with L-glutamine. *J. Anim. Sci.* 95(1): 91–102.
- Julio, C., Montero, M. y Acevedo, D. (2013). Plasma sanguíneo de diferentes especies: Una alternativa en la industria alimentaria. *ReCiTeIA.* 13(1):39-48.
- Just, A., Sauer, W., Bech-Andersen, S., Jørgensen, H. y Eggum, B. (1980). The influence of the hind gut microflora on the digestibility of protein and amino acids in growing pigs elucidated by addition of antibiotics to different fractions of barley. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 43(1–5): 83–91.
- Kelly, J., Daly, K., Moran, A., Ryan, S., Bravo, D. y Shirazi-Beechey, S. (2017). Composition and diversity of mucosa-associated microbiota along the entire length of the pig gastrointestinal tract; dietary influences. *Environ. Microbiol.* 19(4): 1425–1438.

- Khattab, R. y Arntfield, S. (2009). Nutritional quality of legume seeds as affected by some physical treatments 2. Antinutritional factors. *LWT-Food. Sci. Tech.* 42(6):1113-1118.
- Kim, J. C., Hansen, C., Mullan, B. y Pluske, J. (2011). Nutrition and pathology of weaner pigs: Nutritional strategies to support barrier function in the gastrointestinal tract. *Anim. Feed. Sci. Tech.* 173(1-2):3–16.
- Li, Z., Wang, X., Guo, P., Liu, L., Piao, X., Stein, H. y Lai, C. (2015). Prediction of digestible and metabolisable energy in soybean meals produced from soybeans of different origins fed to growing pigs. *Arch. Anim. Nutr.* 69(6): 473-486.
- Machado, Y. (2016). Impacto de la fuente de proteína dietética sobre el comportamiento de indicadores de salud intestinal en lechones recién destetados. Tesis de Maestría en Salud y Producción Animal Sustentable. UAQ. México.
- Mariscal, G. y Reis de Souza, T. (2006). Endogenous ileal losses of nitrogen and amino acids in pigs and piglets fed graded levels of casein. *Arch. Anim. Nutr.* 60(6): 454-466.
- Mariscal, G., Reis de Souza, T., Hernández, A. y Escobar, K. (2009). 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. *Rev. Mex. Cienc. Pecu.* 47(3): 371-388.
- Marx, F., Ahlstrøm, Ø., Trevizan, L. y Kessler, A. (2018). Determination of endogenous fat loss and true total tract digestibility of fat in mink (Neovison vison). *Arch. Anim. Nutr.* 73(1): 67-73.
- Mavromichalis, I. (2006). *Applied nutrition for young pigs*. CABI International. First edition. USA. Pp. 12- 53.
- McDonald, P., Edwards, R., Greenhalgh, J., Morgan, C., Sinclair, L. y Wilkinson, R. (2010). *Animal nutrition*. Séptima edición. Pearson. UK. Pp. 712.

- Montagne, L., Toullec, R. y Lallès, J. P. (2001). Intestinal digestion of dietary and endogenous proteins along the small intestine of calves fed soybean or potato. *J. Anim. Sci.* 79(10): 2719–2730.
- Myers, W., Ludden, P., Nayigihugu, V. y Hess, B., 2004. A procedure for the preparation and quantitative analysis of samples for titanium dioxide 1. *J. Anim. Sci.* 82(1): 179-183.
- NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-004-ZOO-1994, Control de residuos tóxicos en carne, grasa, hígado y riñón de bovinos, equinos, porcinos y ovinos. Disponible en: <http://www.porcimex.org/NORMAS/NOM-004-ZOO-1994.pdf>. [Consultado el 12-08-17].
- NRC. National Research Council. (2012). Nutrient Requirement of Swine. 11th Edition. Washington, D.C. National Academy Press.
- Nyachoti, C., Omogbenigun, F., Rademacher, M. y Blank, G. (2006). Performance responses and indicators of gastrointestinal health in early-weaned pigs fed low-protein amino acid-supplemented diets. *J. Anim. Sci.* 84(1): 125–134.
- Ohh, S., Shinde, P., Jin, Z., Choi, J., Hahn, T., Lim, H. y Chae, B. (2009). Potato (*Solanum tuberosum* L. cv. Gogu valley) protein as an antimicrobial agent in the diets of broilers. *Poult. Sci.* 88(6): 1227–1234.
- Osorio, E., Giraldo, J. y Narváez, W. (2012). Metodologías para determinar la digestibilidad de los alimentos utilizados en la alimentación canina. *Vet. Zootec.* 6(1): 87-97.
- Owusu-Asiedu, A., Nyachoti, C., Baidoo, S., Marquardt, R. y Yang, X. (2003). Response of early-weaned pigs to an enterotoxigenic *Escherichia coli* (K88) challenge when fed diets containing spray-dried porcine plasma or pea protein isolate plus egg yolk antibody. *J. Anim. Sci.* 81(7): 1781–1789.
- Parra, J. y Gómez, A. (2009). Importancia de la utilización de diferentes técnicas de digestibilidad en la nutrición y formulación porcina. *Rev. MVZ Córdoba*, 14(1):1633-1641.

- Peace, R., Campbell, J., Polo, J., Crenshaw, J., Russell, L. y Moeser, A. (2011). Spray-Dried Porcine Plasma Influences Intestinal Barrier Function, Inflammation, and Diarrhea in Weaned Pigs. *J. Nutr.* 141(7): 1312–1317.
- Pedersen, C., Almeida, J. y Stein, H. (2016). Analysis of published data for standardized ileal digestibility of protein and amino acids in soy proteins fed to pigs. *J. Anim. Sci.* 94(7): 340–343.
- Pedersen, C. y Boisen, S. (2002). Establishment of tabulated values for standardized ileal digestibility of crude protein and essential amino acids in common feedstuffs for pigs. *Acta. Agr. Scand. A-An.* 52(3): 121-140.
- Pluske, J. R., Le Dividich, J. y Verstegen, M. W. (Eds.). (2003). Weaning the pig: concepts and consequences. 1ra Edición. Wageningen Academic Pub. Pp. 432.
- Pluske, J., Kerton, D., Cranwell, P., Campbell, R., Mullan, B., King, R. y Dunshea, F. (2003). Age, sex, and weight at weaning influence organ weight and gastrointestinal development of weanling pigs. *Aust. J. Agric. Res.* 54(5): 515–527.
- Pluske, J., Le Dividich, J. y Verstegen, M. (2007). El destete en el ganado porcino: conceptos y aplicaciones. 1ra Edición. Servet. Pp. 456.
- Reis de Souza, T., Botello, B. y Mariscal, G. (2000). Canulación de cerdos posdestete para pruebas de digestibilidad ileal: Desarrollo de una metodología. *Téc. Pecu. Méx.*, 38(2): 143-150.
- Reis de Souza, T., Carrillo, M., Barreyro, A. y Mariscal, G. (2005). Efecto de diferentes cereales sobre la morfología intestinal de lechones recién destetados. *Rev. Méx. Cienc. Pecu.* 43(3): 309-321.
- Reis de Souza, T., Mariscal, G. y Escobar, K. (2010). Algunos factores fisiológicos y nutricionales que afectan la incidencia de diarreas posdestete en lechones. *Vet. Méx.* 41(4): 275-288.
- Reis de Souza, T., Mariscal, G., García, K., Barreyro, A. y Barrón, A. (2012). Cambios nutrimentales en el lechón y desarrollo morfofisiológico de su aparato digestivo. *Vet. Méx.* 43(2): 155–173.

- Reis de Souza, T. y Mariscal, G. (1997). El destete, la función digestiva y la digestibilidad de los alimentos en cerdos jóvenes. *Rev. Méx. Cienc. Pecu.* 35(3):145-159.
- Rist, V., Weiss, E., Eklund, M. y Mosenthin, R. (2013). Impact of dietary protein on microbiota composition and activity in the gastrointestinal tract of piglets in relation to gut health: A review. *Animal.* 7(7): 1067–1078.
- Rist, V., Weiss, E., Sauer, N., Mosenthin, R. y Eklund, M. (2014). Effect of dietary protein supply originating from soybean meal or casein on the intestinal microbiota of piglets. *Anaerobe.* 25: 72–79.
- Roberfroid, M. B. (2000). Concepts and strategy of functional food science: The European perspective. *Am. J. Clin. Nutr.* 71(6): 1660–1664.
- Roldan, P., Martinez, R., Yanez, A., Trujillo, M. E., Sanchez, M., Perez, E. y Mota, D. (2013). Stressor factors in the transport of weaned piglets: A review. *Vet. Med.* 58(5): 241–251.
- SAS (2008). Statistical Analysis System. User's guide. SAS/ETS® 9.2. Cary, NC: SAS Institute, Inc. USA.
- SENASICA (2004). Manual de buenas prácticas de producción en granjas porcícolas. SAGARPA. México. Disponible en: <http://www.ciap.org.ar/Sitio/Archivos/4.-Manual-Porcino-1.pdf>. [Consultado el 08-09-17].
- Stein, H. (2017). Procedures for determining digestibility of amino acids, lipids, starch, fibre, phosphorus, and calcium in feed ingredients fed to pigs. *Anim. Prod. Sci.* 57(11): 2317-2324.
- Stein, H., Seve, B., Fuller, M., Moughan, P. y De Lange, C. (2007). Invited review: Amino acid bioavailability and digestibility in pig feed ingredients: Terminology and application. *J. Anim. Sci.* 85(1): 172-180.
- Strous, G. y Dekker, J. (1992). Mucin-type glycoproteins. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 27(1–2): 57–92.

- Torrallardona, D. (2010). Spray dried animal plasma as an alternative to antibiotics in weanling pigs. *Asian-Australasian J. Anim. Sci.* 23(1): 131–148.
- Trckova, M., Faldyna, M., Alexa, P., Sramkova Zajacova, Z., Gopfert, E., Kumprechtova, D. y D’Inca, R. (2014). The effects of live yeast *Saccharomyces cerevisiae* on postweaning diarrhea, immune response, and growth performance in weaned piglets. *J. Anim. Sci.* 92(2): 767–774.
- Tuśnio, A., Pastuszewska, B., Świąch, E. y Taciak, M. (2011). Response of young pigs to feeding potato protein and potato fibre - nutritional, physiological and biochemical parameters. *J. Anim. Feed. Sci.* 20(3): 361–378.
- Upadhaya, S. y Kim, I. (2015). Ileal digestibility of nutrients and amino acids in unfermented, fermented soybean meal and canola meal for weaning pigs. *J. Anim. Sci.* 86(4): 408-414.
- Valencia, D. y Serrano, M. (2006). Prohibición del uso de antibióticos como promotores de crecimiento. *Ganadería*, 6(41): 28-31.
- Van Beers-Schreurs, H., Nabuurs, M., Vellenga, L., Kalsbeek-van der Valk, H., Wensing, T. y Breukink, H. (1998). Weaning and the Weanling Diet Influence the Villous Height and Crypt Depth in the Small Intestine of Pigs and Alter the Concentrations of Short-Chain Fatty Acids in the Large Intestine and Blood. *J. Nutr.* 128(6): 947-953.
- Wang, Y., Shan, T., Xu, Z., Feng, J. y Wang, Z. (2007). Effects of the lactoferrin (LF) on the growth performance, intestinal microflora and morphology of weanling pigs. *Anim. Feed. Sci. Technol.* 135(3): 263-272.
- Wang, S., Zeng, X., Yang, Q. y Qiao, S. (2016). Antimicrobial peptides as potential alternatives to antibiotics in food animal industry. *Int. J. Mol. Sci.* 17(5): 603-615.
- Williams, B., Verstegen, M. y Tamminga, S. (2001). Fermentation in the large intestine of single-stomached animals and its relationship to animal health. *Nutr. Res. Rev.* 14: 207-228.

- Yoon, J., Ingale, S., Kim, J., Kim, K., Lee, S., Park, Y. y Chae, B. (2014). Effects of dietary supplementation of synthetic antimicrobial peptide-A3 and P5 on growth performance, apparent total tract digestibility of nutrients, fecal and intestinal microflora and intestinal morphology in weanling pigs. *Livest. Sci.* 159(1): 53–60.
- Yoon, J., Ingale, S., Kim, J., Kim, K., Lohakare, J., Park, Y. y Chae, B. (2013). Effects of dietary supplementation with antimicrobial peptide-P5 on growth performance, apparent total tract digestibility, faecal and intestinal microflora and intestinal morphology of weanling pigs. *J. Sci. Food. Agric.* 93(3): 587–592.
- Yuan, L., Chang, J., Yin, Q., Lu, M., Di, Y., Wang, P. y Lu, F. (2016). Fermented soybean meal improves the growth performance, nutrient digestibility, and microbial flora in piglets. *Anim. Nutr.* 3(1): 19-24.
- Zhang, G., Yang, Z., Wang, Y., Yang, W. y Zhou, H. (2014). Effects of dietary supplementation of multi-enzyme on growth performance, nutrient digestibility, small intestinal digestive enzyme activities, and large intestinal selected microbiota in weanling pigs. *J. Anim. Sci.* 92(5): 2063–2069.

IX. APÉNDICE

9.1 Determinación de Dióxido de Titanio (TiO_2)

1. Pesar la muestra dependiendo el tipo:

- a. Heces (0.3 g)
- b. Digesta (0.25 g)
- c. Dieta (1.2 g).

2. Hacer una curva para la lectura utilizando los seis primeros tubos con titanio y papel:

- a. 0.0000 mg de TiO_2 (blanco).
- b. 0.0020 mg de TiO_2 .
- c. 0.0040 mg de TiO_2 .
- d. 0.0060 mg de TiO_2 .
- e. 0.0080 mg de TiO_2 .
- f. 0.0100 mg de TiO_2 .

3. Proceso de digestión:

- a. Pesar las muestras sobre papel y se coloca en un tubo Kjeldahl.
- b. Agregar 7.8 g de mezcla catalizadora (sulfato de potasio (K_2SO_4) y sulfato cúprico (CuSO_4)).
- c. Agregar 14 ml de ácido sulfúrico (H_2SO_4).
- d. Poner a digerir durante 2 horas o hasta que el color de la muestra cambie a color verde esmeralda.



4. Dejar enfriar 30 minutos y se agregan 5 ml de peróxido de hidrógeno.

5. Dejar en reposo 15 minutos y se agregan 15 ml de agua destilada a cada tubo y se dejan enfriar.

6. Pesar matraces de 125 ml en la balanza y anotar su peso en el matraz con un plumón indeleble.



7. Colocar un embudo de plástico sobre el matraz y poner un papel filtro numero 541 o 41 sobre el embudo.



8. Con la mezcla ya fría, vaciar poco a poco el contenido de los tubos para filtrar.

9. Enjuagar perfectamente el tubo con agua destilada hasta llegar a un peso de 100 g.



10. Agregar 100 μ l de peróxido de hidrógeno al matraz.

11. Homogenizar.



12. Con una pipeta, obtener 3 ml de la muestra y colocar en cubeta para lector de UV.



13. Realizar lectura de absorbancia a una longitud de onda de 410 nm.

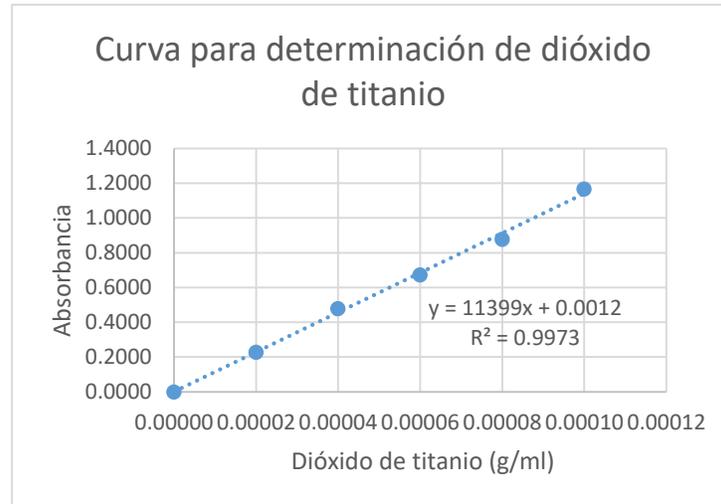


9.1.1 Curva estándar para determinación de dióxido de titanio

1. Se realiza una base de datos con la absorbancia obtenida con diferentes pesos de dióxido de titanio (W muestra, g).

# Tubo	Muestra	W muestra, g	Muestra diluida (g/ml)	Absorbancia
1	Blanco	0	0.00000	0.0000
2	Titanio	0.0020	0.00002	0.2288
3	Titanio	0.0040	0.00004	0.4793
4	Titanio	0.0060	0.00006	0.6730
5	Titanio	0.0080	0.00008	0.8790
6	Titanio	0.0100	0.00010	1.1670

2. Utilizando los datos de absorbancia y la muestra diluida (muestra en gramos diluida en 100 ml) para graficar con línea de tendencia presentando la ecuación y el valor R cuadrado en el gráfico.



3. Con la ecuación obtenida, determinar los gramos de dióxido de titanio en las dietas experimentales.

# Tubo	Muestra	W muestra, g	Muestra diluida g/ml)	Absorbancia	g/ml de titanio	g titanio/g muestra	g/100g (%)	Promedio
29	Dieta 1	1.2000	0.0120	0.4948	4.330E-05	3.6085E-05	0.3609	0.3624
30	Dieta 1	1.2002	0.0120	0.4991	4.368E-05	3.6393E-05	0.3639	
31	Dieta 2	1.2002	0.0120	0.4879	4.270E-05	3.5575E-05	0.3557	0.3546
32	Dieta 2	1.2001	0.0120	0.4846	4.241E-05	3.5336E-05	0.3534	
33	Dieta 3	1.2001	0.0120	0.4600	4.025E-05	3.3538E-05	0.3354	0.3415
34	Dieta 3	1.2000	0.0120	0.4766	4.171E-05	3.4755E-05	0.3475	

a. g/ml de titanio= se utiliza la ecuación de la recta obtenida de la gráfica de la curva estándar (concentración dióxido de titanio vs absorbancia).

b. g titanio/ g de muestra= (g/ml de titanio) / (w muestra).

c. g/100g (%)= [(g titanio/ g de muestra) x (100)]x100.

d. Promediar repeticiones.

4. Repetir cálculos para determinar dióxido de titanio en muestras de heces y contenido ileal.