

EL CONCEPTO DE PROTEÍNA IDEAL Y EL USO DE AMINOÁCIDOS SINTÉTICOS: ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE POLLOS Y CERDOS

Bernard Leclercq
INRA, 37380 Nouzilly. France

1.- INTRODUCCIÓN

La “proteína ideal” es un concepto antiguo propuesto por Mitchell (1924, 1964) para optimizar la utilización de la proteína de la dieta (relación entre retención y consumo de proteína) y minimizar la excreción de nitrógeno. En aquel momento fue un concepto más teórico que práctico. Hace más de 30 años que Dean y Scott (1965) propusieron aplicar este concepto al pollo de engorde. Recientemente ha cobrado de nuevo gran interés en la producción de pollos y cerdos principalmente por tres razones:

- 1) el precio de la proteína en relación al de la energía está aumentando en Europa y probablemente continuará aumentando en el futuro.
- 2) la creciente disponibilidad de aminoácidos sintéticos (metionina, lisina, triptófano y treonina) para alimentación animal.
- 3) las limitaciones derivadas de la excreción excesiva de nitrógeno al ambiente en varias regiones europeas donde ha estado concentrada la producción de cerdos y pollos.

2.- LA “PROTEÍNA IDEAL” PARA POLLOS

La “proteína ideal” es una mezcla de proteínas alimenticias donde todos los aminoácidos digestibles, principalmente los aminoácidos esenciales, son limitantes en la misma proporción. Esto significa que ningún aminoácido se suministra en exceso en comparación con el resto. Como consecuencia, la retención de proteína (ganancia respecto a consumo de proteína) es máxima y la excreción de nitrógeno es mínima. Esto es posible a través de una adecuada combinación de concentrados proteicos y aminoácidos cristalinos suplementarios. También implica que se conocen las digestibilidades verdaderas de los aminoácidos.

Desde hace 15 años, varios perfiles de necesidades de aminoácidos han sido publicados para las aves. Algunos de ellos fueron propuestos para pollitos en la fase inicial y otros para pollos de engorde. No existen referencias para otras especies avícolas como pavos o patos. Se han utilizado diferentes aproximaciones metodológicas. En la mayoría de los casos, los autores estiman las necesidades de algunos aminoácidos esenciales en experimentos distintos y luego calculan las necesidades del resto de aminoácidos utilizando la composición corporal o de las plumas. Por ejemplo, Boorman y Burgess (1985) determinaron las necesidades de lisina, aminoácidos azufrados y triptófano (para mantenimiento y ganancia de peso) a partir de varios experimentos publicados y estimaron el rendimiento de utilización de los aminoácidos en 0,85. Más tarde algunos autores midieron las necesidades para otros aminoácidos, como arginina, valina o isoleucina, en experimentos independientes y mezclaron los valores encontrados con las necesidades de lisina. Para algunos aminoácidos no existen valores de necesidades publicados. Por ejemplo, las necesidades de leucina, histidina y de los aminoácidos aromáticos, aún siendo aminoácidos esenciales, no pueden ser estimadas fácilmente dado que son muy abundantes en los alimentos y, por tanto, no es fácil inducir una deficiencia drástica de estos aminoácidos en la dieta.

3.-PROBLEMAS METODOLÓGICOS

Generalmente, la lisina se utiliza como aminoácido de referencia y las necesidades de los otros aminoácidos esenciales se expresan como porcentaje de las de la lisina. Por tanto, debería ser de gran importancia medir las necesidades para estos aminoácidos en el mismo experimento que se determinen las de la lisina. Además, muchos factores pueden influir en las necesidades de aminoácidos cuando se expresan como concentraciones en la dieta. Por ejemplo, el nivel energético y la temperatura ambiente pueden modificar el consumo de pienso y, por tanto, el consumo de aminoácidos. Mezclar datos de distintos experimentos puede conducir a obtener estimaciones más imprecisas que si las necesidades de lisina y la del resto de aminoácidos se determinan en el mismo ensayo.

Un segundo problema es el de la digestibilidad de los aminoácidos. En muchos experimentos las necesidades se expresan como concentraciones de aminoácidos totales y, a menudo, las digestibilidades no son estimadas. En muchas ocasiones no es fácil recalcular las concentraciones de aminoácidos digestibles utilizando valores tabulados de digestibilidad.

Otro problema es el criterio utilizado para determinar las necesidades de aminoácidos. En muchos trabajos se utiliza como único criterio la ganancia de peso, lo que puede conducir a una subestimación de las necesidades. Así, para una misma ganancia de peso algunos aminoácidos, como la lisina, pueden reducir la deposición de lípidos y aumentar la deposición de proteína. Este hecho ha sido claramente demostrado por Grisoni (1991) y Leclercq (1997), y se muestra en el cuadro 1.

Cuadro 1.- Necesidades de lisina total (g/kg dieta) según el criterio utilizado para optimizar los rendimientos (Leclercq, 1997)

Modelo	Línea quebrada	Exponencial
Ganancia diaria de peso	9,24	9,69
Índice de Conversión	10,10	11,84
Proporción músculo pechuga	9,75	10,63
Grasa abdominal	11,88	28,78

Un aumento de la concentración de lisina sobre las necesidades para ganancia de peso puede inducir un mayor peso de la pechuga. Por ello, las necesidades de lisina son mayores cuando se utiliza como criterio el peso de la pechuga en lugar de la ganancia de peso. De forma similar, el índice de conversión es utilizado a menudo para estimar las necesidades de aminoácidos y, por tanto, para calcular el perfil ideal en aminoácidos de la proteína de la dieta. Para varios aminoácidos, las necesidades para optimizar el índice de conversión son más elevadas que para la ganancia de peso (Han y Baker, 1994; Leclercq, 1997).

También surgen otros problemas de las aproximaciones matemáticas utilizadas. Algunas curvas de respuesta biológica son próximas al modelo de línea quebrada ("broken line"), pero otras son claramente curvilíneas. Por tanto, para muchos aminoácidos el modelo de línea quebrada subestima las necesidades comparado con las respuestas curvilíneas y económicas. Los autores raramente ofrecen información precisa acerca de la aproximación matemática que utilizaron para sus propuestas de proteína ideal.

Por último, está el problema de los aminoácidos no esenciales (NEAA). Existen muy pocos datos acerca de ellos. De los valores publicados parece que las necesidades de NEAA representan el 45% o menos del total de aminoácidos (Bedford y Summers, 1985; Moran et al., 1996). Este valor también se deduce de los datos mostrados en el cuadro 2.

Cuando los niveles de aminoácidos esenciales se mantienen al nivel sugerido por los valores publicados de necesidades y cuando la concentración proteica de la dieta se reduce utilizando aminoácidos cristalinos, la adición de glutámico y aspártico no afecta a la ganancia de peso ni a la proporción en peso de la pechuga. El índice de conversión resulta ligeramente disminuido por la suplementación con NEAA.

Cuadro 2.- Efecto de la suplementación con ácido glutámico y aspártico durante el período de crecimiento (21 a 39 d de edad), (Leclercq, resultados no publicados)

Dieta	A	B	C	Control
Proteína Bruta	162	172	187	208
Lisina digestible	9,5	9,5	9,5	9,5
Azufrados digestibles	8,1	8,1	8,1	8,1
Treonina digestible	6,6	6,6	6,6	7,0
Arginina digestible	10,5	10,5	10,5	10,5
NEAA/AA totales	0,456	0,521	0,571	0,492
Ganancia diaria (g)	74,4	72,6	74,8	75,3
Indice Conversión	2,000 b	1,962 ab	1,941 ab	1,901 a
Músculo pechuga (g/kg)	142	144	143	148

Conclusiones similares pueden ser deducidas del reciente trabajo de Alleman y Leclercq (1997) comparando dos niveles de proteína (160 y 200 g/kg) entre los 22 y 43 días de edad. Moran et al. (1996) mostraron también recientemente que cuando se añade ácido glutámico a un pienso de crecimiento conteniendo 175 g PB/kg, la proporción de grasa abdominal y músculo de la pechuga no resultaron afectadas. La única ligera mejora se refería a los tejidos conectivos. En este experimento la dieta con bajo nivel de proteína contenía un 50% de aminoácidos como NEAA.

De nuevo hemos de insistir que hay pocos experimentos sobre los efectos de los NEAA sobre la composición de la canal. Necesitamos más trabajos sobre este tema.

4.- VALORES PUBLICADOS DE “PROTEÍNA IDEAL” PARA POLLOS

Los perfiles publicados de proteína ideal para pollos se muestran en el cuadro 3 para el periodo de inicio (“starter”) y en el cuadro 4 para la fase de crecimiento (“grower”). En alimentación de pollos y cerdos, la lisina es utilizada como aminoácido de referencia (lisina=100), ya que que las necesidades de este aminoácido están bien documentadas y son fácilmente medibles. Para otros aminoácidos, las necesidades se expresan en valores relativos a la lisina. En el periodo de inicio existe gran coincidencia entre fuentes para los aminoácidos azufrados, triptófano y leucina, mientras que los valores para arginina, histidina, treonina, valina y leucina son más diferentes. Para crecimiento, los valores para aminoácidos azufrados, treonina, triptófano y histidina son similares entre fuentes, y más diferentes los de arginina, valina e isoleucina.

Cuadro 3.- Perfil ideal de aminoácidos para broilers durante el período de inicio

	Hurwitz 1974	Scott et al. 1982	NRC 1984	Boorman 1985	Baker 1994
Lisina	100	100	100	100	100
Arginina	118	100	120	108	105
Aas azufrados	78	72	78	76	72
Treonina	71	64	67	63	67
Valina	115	64	68	79	77
Isoleucina	77	80	67	72	67
Leucina	124	120	113	126	109
Triptófano	14	18	19	17	16
Histidina	26	40	29	40	32
Fenilalanina + Tirosina	108	128	112	121	105

Cuadro 4.- Perfil de aminoácidos ideal para broilers durante el período de crecimiento

	Hurwitz et al. 1984	NCR 1984	Baker 1994
Lisina	100	100	100
Arginina	127	120	105
Aminoácidos azufrados	87	72	75
Treonina	77	74	70
Valina	122	72	77
Isoleucina	85	70	67
Leucina	131	118	109
Triptófano	15	18	17
Histidina	26	30	32
Fenilalanina + Tirosina	90	117	105

Recientemente se ha realizado un experimento a gran escala entre Laboratorios Europeos. Se estudiaron siete aminoácidos: lisina, arginina, metionina, triptófano, treonina, valina e isoleucina, utilizando para cada aminoácido seis concentraciones diferentes. Todas las dietas experimentales fueron fabricadas en la misma fábrica a partir de una dieta basal común. Las digestibilidades de los aminoácidos fueron medidas en tres laboratorios. La composición en aminoácidos de la dieta basal y de las dietas experimentales fue determinada también en tres laboratorios. Para cada concentración de aminoácidos se utilizaron alrededor de 160 pollos y el peso de la grasa abdominal y de la pechuga fue medida en 40 animales por dieta.

A partir de este experimento, fue posible estimar las necesidades para cada aminoácido como g/kg de pienso, utilizando el modelo de “línea quebrada”. Los resultados se recogen en el cuadro 5.

**Cuadro 5.- Necesidades de aminoácidos usando el modelo de “línea quebrada”
(g/kg dieta)**

Criterio :	Ganancia	Índice Conversión	BM (%)
Lisina INRA	9,24	10,1	9,43
Lisina Merelbeke	9,84	10,1	9,74
Arginina	9,82	12,2	9,82
Aas azufrados	7,03	7,79	6,60
Treonina	6,10	6,10	6,10
Valina	7,66	7,34	7,34
Isoleucina	« 6,10	6,58	6,58
Triptófano	« 1,50	« 1,50	« 1,50

Puede observarse como las necesidades para optimizar el índice de conversión son superiores a las de ganancia de peso para la lisina, arginina, metionina e isoleucina.

Las necesidades pueden también ser expresadas como mg/g de ganancia (cuadro 6). Teóricamente esta forma de expresar las necesidades es más universal, dado que no depende de la velocidad de crecimiento (genotipo) ni del consumo.

A partir de estos datos se pueden calcular los perfiles de la proteína utilizando los valores de los cuadros 5 y 6. Los perfiles “ideales” para ganancia de peso o proporción de músculo de pechuga (BM) son muy similares, excepto para los aminoácidos azufrados que no muestran efectos significativos sobre BM.

**Cuadro 6.- Necesidades de aminoácidos usando el modelo de “línea quebrada”
(mg/g ganancia)**

Criterio:	Ganancia	Indice Conversión	BM (%)
Lisina INRA	16,64	20,08	17,02
Lisina Merelbeke	16,74	17,82	16,45
Arginina	17,17	21,13	17,17
Aas azufrados	12,29	13,34	11,34
Treonina	10,75	10,75	10,75
Valina	12,90	12,34	12,34
Isoleucina	« 11,06	11,68	11,68
Triptófano	« 2,55	« 2,55	« 2,55

Utilizando el índice de conversión como criterio, las necesidades relativas de treonina y valina tendieron a disminuir y las de arginina aumentaron. Cuando se comparan los perfiles de los cuadros 7 y 8 se observan muchas coincidencias, excepto para la arginina, la cual no parece depender del criterio utilizado si las necesidades se expresan como mg/g de ganancia. Por tanto, el criterio utilizado para estimar las necesidades puede influir ligeramente en el perfil de la “proteína ideal”. A partir de estos experimentos, nosotros calculamos el perfil “ideal” para ganancia utilizando el modelo de “línea quebrada” (cuadro 9). Cuando éste último se compara con los perfiles previamente mostrados (cuadros 7 y 8) se observan valores más altos para la arginina y valina y más bajos para la treonina.

**Cuadro 7.- Relación ideal de algunos aminoácidos respecto a la lisina
(elaborado a partir de los datos del cuadro 5)**

Criterio:	Ganancia	Indice Conversión	BM
Lisina INRA	100	100	100
Arginina	106	121	104
Aas azufrados	76	77	70
Treonina	66	60	65
Valina	83	73	78
Isoleucina	« 66	65	70
Triptófano	« 16	« 15	« 16

Cuadro 8.- Relación ideal de algunos aminoácidos respecto a la lisina

Criterio	Ganancia	Índice Conversión	BM
Lisina INRA	100	100	100
Arginina	103	105	101
Aas azufrados	74	66	67
Treonina	65	54	63
Valina	78	61	73
Isoleucina	« 66	58	69
Triptófano	« 15	« 13	« 15

Cuadro 9.- Perfil ideal de aminoácidos del estudio Europeo

(ganancia de peso, modelo línea quebrada)

Lisina	100
Arginina	112
Aas Azufrados	75
Treonina	63
Valina	81
Isoleucina	71
Leucina	
Triptófano	19
Fenilalanina + Tirosina	

En este experimento también observamos que diferentes aminoácidos no exhiben el mismo efecto sobre la composición de la canal. Este hecho fue muy claro en una parte del experimento realizada en un laboratorio (lisina, treonina, valina). Estos tres aminoácidos fueron comparados en las mismas condiciones: igual genotipo, las mismas instalaciones y el mismo método de disección. La lisina tuvo un efecto altamente significativo sobre las proporciones de grasa abdominal y músculo de la pechuga (cuadro 10). Cambios en la concentración de treonina tuvieron menos efecto sobre la proporción de pechuga. Por último, la valina no influyó en la composición de la canal. Estos diferentes efectos de los aminoácidos esenciales sobre la deposición de lípidos y proteína pueden explicar su distinta influencia sobre el índice de conversión y, de igual forma, explicar por qué el perfil ideal de aminoácidos es dependiente del criterio utilizado para determinar las necesidades.

Cuadro 10.- Comparación de los efectos de deficiencias de lisina, treonina y valina sobre la composición de la canal (40 d edad) (Leclercq, 1997)

	Peso vivo (g)	Grasa abdominal (g)	BM (g)
Lisina, 8 g/kg	2212	54,0	314
Treonina, 5,5 g/kg	2145	49,2	344
Valina, 6,8 g/kg	2115	46,1	354

En la mayoría de los casos, las respuestas productivas a las concentraciones de aminoácidos fueron curvilíneas. Una de ellas fue el modelo exponencial:

$$y = a - b e^{-cx}$$

dónde “y” es el parámetro productivo, “x” es la concentración del aminoácido y “a” es la asíntota de dicho parámetro. Otro modelo exponencial utilizado fue:

$$y = a_0 + b (1 - e^{-c(x-d)})$$

dónde a_0 es el rendimiento con la dieta basal, “b” es el efecto asíntótico de la suplementación con el aminoácido y “d” es la concentración del aminoácido en la dieta basal. Aplicando este último modelo, las necesidades para alcanzar el 95% del valor de la asíntota se muestran en el cuadro 11. Cuando se comparan con las obtenidas con el modelo de “línea quebrada” se observa que el modelo curvilíneo tiende a reducir la relación treonina:lisina y triptófano:lisina y a aumentar la relación arginina:lisina.

Cuadro 11.- Necesidades de aminoácidos usando un modelo exponencial

Criterio	Ganancia	Índice Conversión	BM
Lisina INRA	10,1	12,2	11,0
Lisina Merelbeke	10,9	12,3	10,3
Arginina	13,2	16,1	13,6
Aas Azufrados	7,9	9,1	7,1
Treonina	5,9	6,5	6,0
Valina	8,3	8,1	8,0
Isoleucina	7,4	6,4	6,9
Triptófano	« 1,5	« 1,5	« 1,5

Necesidades de aminoácidos para obtener el 0,95 del efecto máximo.

Si comparamos el perfil de la “proteína ideal” resultante con los valores anteriormente propuestos, las principales diferencias se refieren a la valina, isoleucina y treonina. La relación valina:lisina parece ser ligeramente más alta que la inicialmente propuesta. La relación treonina:lisina es de alrededor de 0,63, por tanto, inferior a las recomendaciones previas.

Cuadro 12.- Perfil ideal de aminoácidos utilizando los datos del cuadro 11.

Criterio	Ganancia	Indice Conversión	BM
Lisina INRA	100	100	100
Arginina	131	132	124
Aas azufrados	78	75	65
Treonina	58	53	55
Valina	82	66	73
Isoleucina	73	52	63
Triptófano	« 15	« 12	« 11

5.- LA PROTEÍNA IDEAL CAMBIA CON LA EDAD?

Hay dos razones para que la “proteína ideal” cambie con la edad del animal. La primera de ellas se basa en la relación de las necesidades de mantenimiento a las necesidades totales (mantenimiento+crecimiento). Boorman y Burgess (1985) estimaron hace algunos años las necesidades diarias de mantenimiento para pollos (cuadro 13).

**Cuadro 13.- Necesidades de aminoácidos para mantenimiento de broilers (mg/kg y d)
(Boorman y Burgess, 1985)**

	Valor absoluto	Valor relativo
Lisina	85	100
Arginina	50	59
Aas azufrados	60	71
Treonina	40	47
Valina	60	71
Isoleucina	50	59
Triptófano	10	12

Las necesidades de lisina para mantenimiento son despreciables a partir de los 20 días de edad (ganancia diaria=80 g; peso vivo=750 g) y representan sólo el 5% de las necesidades totales. Al final del periodo de crecimiento, las necesidades de mantenimiento tienden a ser más importantes a medida que el peso corporal aumenta y la velocidad de crecimiento disminuye. El perfil en aminoácidos para mantenimiento es diferente del de crecimiento sólo para la arginina, histidina, treonina, leucina e isoleucina cuyos valores relativos a la lisina disminuyen con la edad. Las necesidades de aminoácidos azufrados, triptófano, treonina, valina e isoleucina no deberían cambiar significativamente.

La segunda razón para el cambio del perfil de la proteína ideal podría estar relacionado con el crecimiento de la proteína corporal y la proteína de las plumas. Sin embargo, el crecimiento de ambos es progresivo y la proteína de las plumas representa una cantidad pequeña en relación con la proteína corporal. No es fácil estimar el efecto específico del crecimiento de las plumas sobre el perfil de aminoácidos. Las proteínas de las plumas son ricas en cistina, prolina, serina, aminoácidos aromáticos y valina (Nitsan et al., 1981) y pobres en histidina y lisina. Es improbable que se observen cambios en la proteína ideal.

6.- COMPARACION DE LA PROTEINA IDEAL PARA POLLOS Y CERDOS

Los perfiles de proteína ideal para cerdos propuestos por distintos autores se muestran en el cuadro 14.

Cuadro 14.- Proteína ideal para cerdos en crecimiento

	ARC 1981	Fuller 1989	Wang y Fuller, 1989	Chung y Baker, 1992
Lisina	100	100	100	100
Aas azufrados	50	59	63	60
Treonina	60	75	72	65
Valina	70	75	75	68
Isoleucina	55	62	60	60
Leucina	100	111	110	100
Triptófano	15	19	18	18
Histidina	23	26	-	32
Fenilalanina + Tirosina	96	81	120	95

Como en el caso de las aves, existe cierta heterogeneidad entre los perfiles propuestos. Cuando se comparan con los de pollos (cuadros 3 y 4), los valores relativos de la mayoría de los aminoácidos son similares. La relación leucina:lisina y aminoácidos aromáticos:lisina son más bajas en cerdos que en pollos. La relación treonina:lisina también es inferior en cerdos. No obstante, los resultados del estudio europeo son más próximos a los datos más recientes para cerdos. Las dos diferencias principales se refieren a los aminoácidos azufrados y la arginina. La relación aminoácidos azufrados:lisina más alta en pollos se debe al crecimiento de las plumas. Respecto a la arginina, el cerdo es capaz de sintetizar una gran proporción de este aminoácido. La composición en aminoácidos de la ganancia de peso de pollos y cerdos es muy similar (Batterham et al., 1990; Fisher, 1983) excepto para la cistina y también la valina, respecto a los cuales la proteína de los pollos es más rica que la de los cerdos.

En relación con las necesidades de mantenimiento hay pocos datos tanto para cerdos como para pollos (cuadro 15). De los resultados de Fuller et al. (1989), se deduce que la relación treonina:lisina “ideal” para mantenimiento es de 147 para cerdos y 47 para pollos. De manera similar, la relación aminoácidos azufrados:lisina no parece ser diferente entre las dos especies. Para otros aminoácidos es probable que existan diferencias entre pollos y cerdos. Sin embargo, sería necesario comparar ambas especies en las mismas condiciones para estar seguros que las diferencias se deben a la especie. Aunque estas diferencias parezcan pequeñas, pueden tener una gran influencia sobre la formulación de los piensos.

Cuadro 15.- Perfil ideal para mantenimiento en pollos y cerdos

	Pollos*	Cerdos**
Lisina	100	100
Arginina	59	-
Aminoácidos azufrados	71	147
Treonina	47	139
Valina	71	52
Isoleucina	59	44
Leucina	47	71
Triptófano	12	29
Histidina	12	-
Fenilalanina + Tirosina	141	124

* Boorman y Burgess (1985)

** Fuller et al. (1989)

7.- CONCLUSIONES

Existen muchas similitudes entre la proteína ideal para pollos y cerdos, excepto para los aminoácidos azufrados y la arginina. No hay evidencia de diferencias significativas entre especies para el resto de aminoácidos durante el periodo de crecimiento. Los experimentos con pollos comenzaron algunos años más tarde que los de cerdos. Sin embargo, con pollos pueden plantearse trabajos experimentales más profundos y amplios, dado que el pequeño tamaño de estos animales permite protocolos más precisos. Esperamos que en el futuro se realicen trabajos más precisos comparando las necesidades y metabolismo de los aminoácidos en diferentes especies.

8.- REFERENCIAS

- ALLEMAN, F. y LECLERCQ, B. (1997) *Br. Poult. Sci.* 38, 607-610.
- BAKER, D.H. (1994) En: *Proceeding of the Cornell Nutrition Conference*, pp 134-138.
- BATTERHAM, E.S., ANDERSEN, L.M., BAIGENT, D.R. y WHITE, E. (1990) *Br. J. Nutr.* 64, 81-94.
- BEDFORD, M.S. y SUMMERS, J.D. (1985) *Br. Poult. Sci.* 26, 483-491.
- BOORMAN, K.N. y BURGESS, A.D. (1985) En: *Nutrient requirements of poultry and nutritional research*, Butterworths, pp 99-123.
- CHUNG, T.K. y BAKER, D.H. (1992) *J. Anim. Sci.* 70, 3103-3111.
- DEAN, W.F. y SCOTT, H.M. (1965) *Poult. Sci.* 44, 803-808.
- FISHER, C. (1983) En: *Protein nutrition and metabolism*, Colloques de l'INRA, pp 385-404.
- FULLER, M.F., Mc WILLIAM, R., WANG T.C., GILES, L.R. (1989) *Br. J. Nutr.* 62, 255-267.
- GRISONI, M.L. (1991). Thesis. University of Aix-Marseille.
- HAHN, J.D. y BAKER, D.H. (1995) *J. Anim. Sci.* 73, 482-489.
- HURWITZ, S., SKLAN, D. y BARTOV I. (1978) *Poult. Sci.* 57, 197-205.
- LECLERCQ, B. (1997) *Poult. Sci.* 77, 118-123.
- MITCHELL, H.H. (1924) *Physiological Reviews* 4, 424-478.
- MITCHELL, H.H. (1964) En: *Comparative nutrition of man and domestic animals*, Academic Press, pp 567-647.
- MORAN, E.T. y STILBORN, H.L. (1996) *Poult. Sci.* 75, 120-129.
- NITSAN, Z., DVORIN, A. y NIR, I. (1981) *Br. Poult. Sci.* 22, 79-84.