



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

**EVALUACIÓN DE LA CALIDAD NUTRIMENTAL
DE LA HARINA DE FRIJOL NEGRO (*Phaseolus
vulgaris*) ADICIONADA CON HIERRO Y CALCIO**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA DE ALIMENTOS**

PRESENTA:

ROXANA LORAN JUÁREZ



MÉXICO, D.F.

2013



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE : M. en C. Lucia Cornejo Barrera

VOCAL : Dra. Iliana Elvira González Hernández

SECRETARIO : M. en C. Argelia Sánchez Chinchillas

1er. SUPLENTE : M. en C. Jeanette Adriana Aguilar Navarro

2° SUPLENTE : M en C. Verónica García Saturnino

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

FACULTAD DE QUÍMICA, EDIFICIO A DEPARTAMENTO DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA, LABORATORIO 4-C

ASESOR DEL TEMA:

M. en C. Lucia Cornejo Barrera _____

SUPERVISOR TÉCNICO:

M. en C. Bernardo Lucas Florentino _____

SUSTENTANTE:

Roxana Loran Juárez _____

I. INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVO GENERAL	3
2. 1 Objetivos Específicos	3
III. MARCO TEÓRICO	4
3.1 Leguminosas	4
3.2 Frijol.....	4
3.3 Producción	5
3.4 Frijol negro	6
3.5 Composición del frijol negro	7
3.5.1 Proteínas	7
3.5.2 Hidratos de Carbono.....	8
3.5.3 Lípidos	9
3.5.5 Contenido de factores tóxicos y antinutrimientales	10
3.5.5.1 Taninos	10
3.5.5.2 Lectinas o hemaglutininas	11
3.5.5.3 Inhibidores de proteasas.....	11
3.6 Calidad de las Proteínas	12
3.6.1 Medición de la calidad nutritiva de las proteínas.....	13
3.7 Densidad energética de los alimentos.....	15
3.8 Calcio	16
3.9 Hierro.....	17
IV. METODOLOGÍA	20
4.2 Selección de la muestra	21
4.3 Acondicionamiento de muestra	21
4.4 Análisis bromatológico.....	21
4.5 Determinación de hierro (AOAC 2005, 944.02)	22
4.5.1 Determinación de calcio (AOAC 2005, 944.03)	25

4. 6 Ensayos Biológicos REP, RNP y Digestibilidad	28
4.6.1 Elaboración de dietas	28
4.6.2 Relación de Eficiencia Proteínica (REP AOAC 2005, 960.48)	29
4.6.2 Determinación de la Relación Neta de la Proteína (RNP)	31
4.6.3 Digestibilidad aparente AOAC 2005, 991.29	33
4.7 Determinación de la densidad energética en alimentos y heces.....	35
4.8 BIODISPONIBILIDAD.....	38
4.8.1 Biodisponibilidad de energía.....	38
4.8.2 Biodisponibilidad de hierro	39
4.8.3 Biodisponibilidad de calcio	39
4.9 Tratamiento estadístico	40
V.RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS.....	41
5.1 Análisis bromatológico.....	41
5.2 Pruebas biológicas Relación Eficiencia Proteína (REP) Y Relación Neta de la Proteína (RNP)	42
5.3 Biodisponibilidad de energía	49
5.4 Biodisponibilidad de calcio	50
5.5 Biodisponibilidad de Hierro.....	52
VI. CONCLUSIONES	55
Perspectivas.....	56
VII. BIBLIOGRAFÍA	57
VII. ANEXOS.....	63
Anexo I. Curvas patrón.....	63
Anexo II. Ejemplo de cálculos de Dietas	64
Anexo III. Datos del hierro y calcio adicionados	67
Anexo IV Incremento de peso y alimento consumido de los animales durante 28 días.....	67
Anexo V. Incremento de peso y alimento consumido de los animales durante 11 días.....	70

Anexo VI Nitrógeno ingerido y nitrógeno fecal	72
Anexo VII. Análisis estadístico	73

TABLAS

Tabla 1. Formulación de las diferentes dietas elaboradas (100 g de dieta).....	28
Tabla 2. Análisis bromatológico de frijol negro y maíz.....	41
Tabla 3. Comparación del análisis bromatológico teórico y experimental del frijol negro (<i>Phaseolus vulgaris</i> g /100).....	42
Tabla 4. Valores experimentales de Relación de la Eficiencia Proteínica (REP); Relación Neta de la Proteína (RNP) y Digestibilidad aparente.....	44
Tabla 5 Valores experimentales de Relación de la Eficiencia Proteínica ajustada (REPa) y Relación Neta de la Proteína ajustada (RNPa).....	47
Tabla 6. Biodisponibilidad de energía.....	50
Tabla 7. Biodisponibilidad de calcio.....	51
Tabla 8. Biodisponibilidad de hierro.....	53

Figuras

Figura 1. Principales países productores de frijol(a nivel mundial).....	6
Figura 2 Principales estados productores de frijol(a nivel nacional).....	6
Figura 3 Diagrama general de la metodología.....	20
Figura 4 Curva de crecimiento durante el ensayo biológico.....	43
Figura 5. Comparación de la Relación Eficiencia Proteína ajustada (REPa) de las dieta de frijol negro y las de Caseína.....	47
Figura 6. Comparación de la Relación Neta de la Proteína ajustada (RNPa) de las dietas de frijol negro y las de Caseína.....	48
Figura 7 Curva estándar obtenida del hierro.....	63
Figura 8 Curva estándar obtenida del ácido benzoico.....	63

I. INTRODUCCIÓN

El frijol tanto en México como en varios países de Latinoamérica es una de las principales fuentes de alimento. En nuestro país la cosecha de frijol es mayor que cualquier otra leguminosa, ya que además de ser un alimento importante en la dieta genera un apoyo a la economía de los campesinos. El frijol es fuente de hidratos de carbono, vitaminas, nutrimentos inorgánicos pero sobre todo una de las fuentes más económicas de proteína, comparándolo con la proteína de carne

El consumo de cada variedad del frijol depende de los gustos sensoriales de cada persona, así como también de las condiciones de cultivo. Por ejemplo, el consumo del frijol negro ha aumentado, por tener un sabor aceptado mayormente en algunas regiones. Además, algunos estudios reportan propiedades benéficas en la salud como son la prevención de enfermedades como cáncer, diabetes y problemas cardiovasculares, entre otros (Castellanos Z, et al., 1997).

La importancia del frijol en la dieta del pueblo mexicano es esencial, debido básicamente a sus cualidades nutritivas; sin embargo, al ser sometido al proceso de cocción, que es la forma como se consume, si no se realiza esta operación en forma adecuada, puede perder parte de dichas características (Olvera G; 1997).

En este trabajo se emplearon métodos biológicos para evaluar la calidad de de la proteína del frijol negro y la mezcla de frijol negro: harina de maíz nixtamalizada (proteína 50:50), tales como: Relación de la Eficiencia Proteínica (REP), Relación de Proteína Neta (RPN), Digestibilidad aparente (Da) y Balance Energético (BE), así como el conocer la biodisponibilidad de hierro y calcio en dicha harina adicionada con fumarato ferroso y citrato de calcio respectivamente. Como se sabe, en México existen regiones donde hay deficiencias de calcio y de hierro provocando osteoporosis y anemia entre otras enfermedades, se decidió agregar a las dietas estos nutrimentos inorgánicos, esperando así obtener una harina enriquecida.

Debido a la implementación del nuevo plan de estudios de la carrera de Química de Alimentos a partir del 2005, se ha planteado un ciclo terminal en el área de la nutrición, en la que se propone el Laboratorio de Evaluación Nutricional de Alimentos. Con base en lo anterior, en el presente trabajo se obtendrán resultados de la evaluación nutricional del frijol negro cocido para su inclusión en una base de datos de consulta para los alumnos que cursen dicho ciclo terminal.

OBJETIVO GENERAL

- Elaborar con los datos obtenidos una base de datos para la asignatura de Laboratorio de Evaluación Nutricional de Alimentos, donde los alumnos encontrarán la información para evaluar la calidad nutricional de una proteína del frijol negro y la mezcla frijol negro: harina de maíz nixtamalizada (proteína 50:50) determinada a partir de distintos métodos biológicos, tales como: Relación de la Eficiencia Proteínica (REP), Relación de Proteína Neta (RPN), Digestibilidad aparente (Da), Balance Energético (BE) y biodisponibilidad de hierro y calcio.

2.1 Objetivos Específicos

- Determinar la calidad proteínica de la harina de frijol negro cocido, harina de frijol negro con hierro y harina de frijol negro con calcio, mediante estudios biológicos.
- Obtener los valores de la suplementación de frijol negro (FN) + harina de maíz nixtamalizada (HMN) proteína 50:50 en condiciones de trabajo semejantes a las usadas en los laboratorios de enseñanza de la Facultad de Química.
 - Determinar la energía digerible de las harinas mencionadas
 - Evaluar la biodisponibilidad de hierro y calcio de la harina de frijol negro, harina de frijol negro con hierro y harina de frijol negro con calcio.
- Los datos obtenidos serán propuestos para realizar una base de datos de fácil acceso para los alumnos que cursen el ciclo terminal de Nutrición de la Facultad de Química.

III. MARCO TEÓRICO

3.1 Leguminosas

Las leguminosas son componentes importantes en la dieta tanto en los países industrializados, como aquellas en vías de desarrollo, constituyendo la fuente principal de proteína de numerosas poblaciones del mundo, principalmente en aquellas regiones donde la disponibilidad de proteínas de origen animal o el acceso a ellas se encuentra limitado (Bressani R; 1993). Son también una fuente de proteínas para aves de corral y otros animales monogástricos que proporcionan carne para consumo humano.

Además, proporcionan energía, vitaminas y nutrimentos inorgánicos importantes en la nutrición humana. La alimentación de muchos países americanos es a base de maíz, frijol, vegetales y frutos (Casanueva E; 2001).

3.2 Frijol

En México, el frijol ha sustentado la alimentación popular desde épocas precolombinas en donde se le conocía bajo varios nombres: Etl (náhuatl), Tatsunitl (purépecha), X-kalil-bul (maya), Bizaahul (zapoteco). Varios cronistas españoles se dieron cuenta de la importancia del frijol en la alimentación de los indígenas, como Fray Bernardino de Sahagún al describir la alimentación de los otomíes basada en maíz, frijol, chile, sal y tomates; Motolinia relató cómo, en los tianguis, se vendía el maíz en granos y mazorcas al lado de semillas de frijol (Olvera G; 1997).

El frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) es entre las leguminosas de grano alimenticias, la especie más importante para el consumo humano, siendo así para algunos la principal fuente de proteína (Ortega R; 2003), además también contiene hidratos de carbono, vitaminas (en especial las del complejo B, como niacina, tiamina, ácido fólico y riboflavina entre otras) y nutrimentos inorgánicos (hierro,

magnesio y zinc). El contenido de proteína es de alrededor de 20-30 %, siendo deficiente, en aminoácidos azufrados, pero con un alto contenido de lisina (Leterme P; 2002).

Su importancia en la alimentación, se debe entre otras características al menor costo de su proteína en relación con la proteína de origen animal. El contenido de proteína en el frijol es de dos a tres veces superior a los cereales. Existen diferentes tipos de frijol comercial los de mayor demanda son negro, azufrado, bayo, pinto, flor de mayo y flor de junio (Quintana; 2000).

ASERCA reportó en 2007 que las variedades negras son las de mayor consumo (37.6%), seguidas de las claras (20.4 % rosas y 16.5 % amarillas) y las pintas (25.5 %) (ASERCA; 2007).

3.3 Producción

Su producción abarca diversas áreas, se cultiva en todo el mundo, siendo América la zona de mayor producción (Figura 1).

El frijol es uno de los cultivos de mayor importancia en nuestro país, ubicándose así en segundo lugar por superficie destinada; se siembra en todos los estados de México en diferentes épocas y con varios sistemas de producción, lo cual favorece la diversidad genética. La producción total de frijol en el 2008 fue de 1.3 millones de toneladas, siendo los principales estados productores, Zacatecas (26.8 %), Sinaloa (16.9 %), Durango (9.5 %), Chiapas y Chihuahua con un 6.3 y 5.6 %, respectivamente, estos valores se pueden observar en la figura 2 (SAGARPA, 2009).

El papel de esta leguminosa es fundamental en lo económico, ya que representa para la economía campesina una fuente importante de ocupación e ingreso así como una garantía de seguridad alimentaria y vía de autoconsumo (Olvera G; 1997).

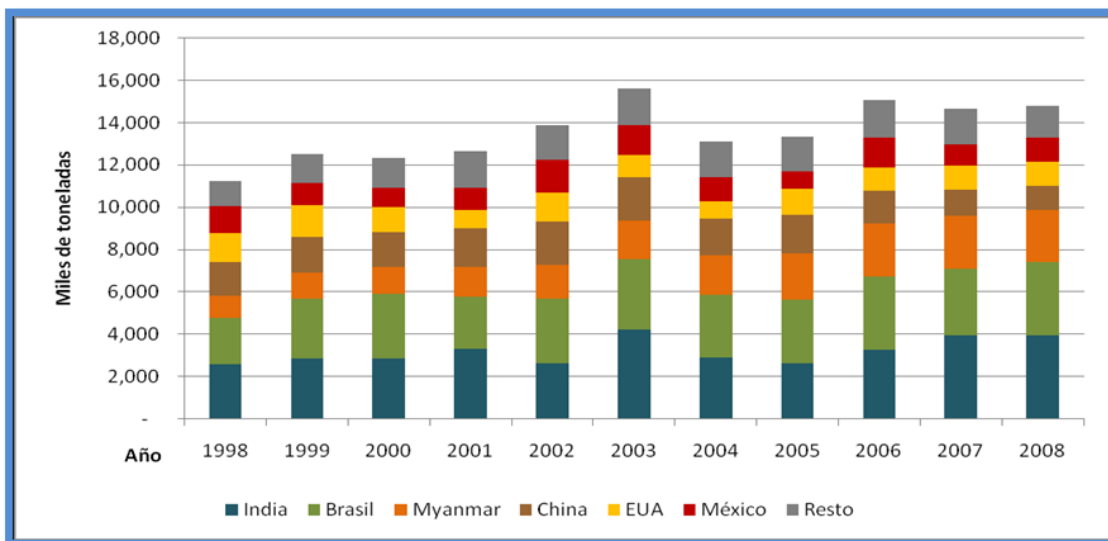


Figura 1. Principales países productores de frijol (a nivel mundial).

Fuente: SAGARPA 2009.

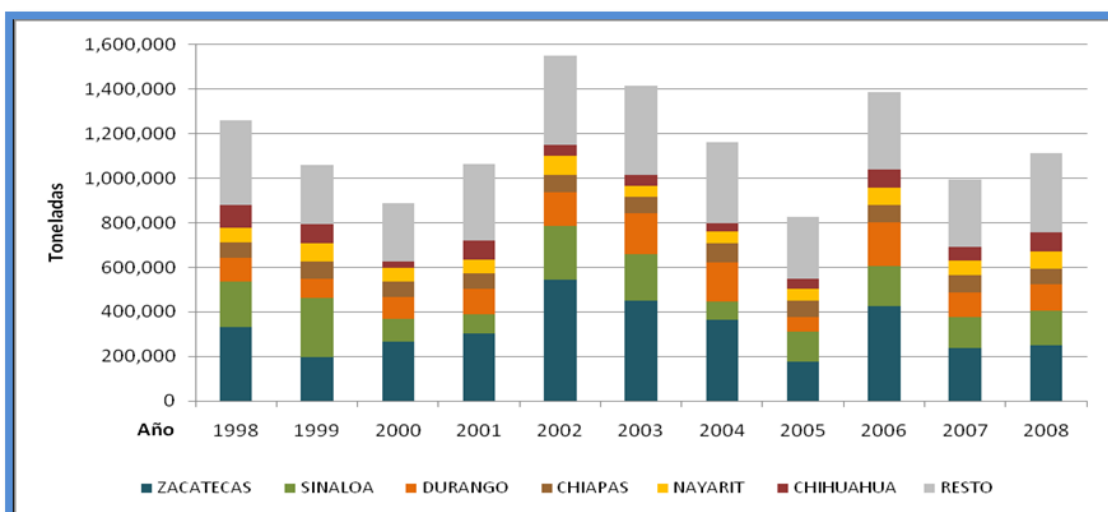


Figura 2. Principales estados productores de frijol (a nivel nacional). Fuente SAGARPA 2009.

3.4 Frijol negro

En México, el frijol negro es la clase comercial de mayor demanda debido a sus propiedades organolépticas con un amplio mercado en el centro y sur del país (ASERCA, 2007).

En 2006 se sembraron en el país aproximadamente 600,000 ha de frijol negro. Esa superficie se cubría con variedades tropicales de grano opaco como

Jamapa y Veracruz y variedades de grano brillante como Negro San Luis, Negro Querétaro y Negro Zacatecas (SAGARPA, 2009).

En años recientes los Estados Unidos de América han incrementado la producción y consumo de frijol negro. Esta situación es el reflejo de la promoción que se ha hecho sobre el efecto benéfico que el consumo de frijol tiene sobre la prevención de enfermedades como cáncer, diabetes y problemas cardiovasculares (Guzmán-Maldonado, 2002 y Ríos-Ugalde 2007). Estos efectos son atribuidos a varios compuestos antioxidantes que contiene el frijol como las antocianinas, taninos, fenoles y flavonoides; además del alto contenido de fibra y almidón resistente, el cual no es degradado por las enzimas digestivas del hombre, llegando intacto al intestino grueso donde es fermentado por la microbiota y brinda sus beneficios al organismo. (Osorio-Díaz; 2002).

3.5 Composición del frijol negro

El frijol negro tiene un contenido elevado de proteínas, hidratos de carbono, nutrimentos inorgánicos, y un bajo contenido en lípidos por lo que su aporte energético es relativamente bajo, aunque tiene alta concentración de ácido linoléico.

3.5.1 Proteínas

El frijol negro es una de las principales fuentes de proteína en algunos estados de México así como en otros países y comunidades de bajos recursos. La comparación del contenido en aminoácidos de la proteína del frijol con la proteína de referencia de FAO/OMS de 1991 (Serrano J; 2004), indica que el frijol negro es una buena fuente de aminoácidos aromáticos, lisina, leucina e isoleucina; sin embargo deficiente en aminoácidos azufrados. Los frijoles se consumen habitualmente con tortillas de maíz obteniendo una suplementación de ambas proteínas, originando una proteína de alto valor nutricional.

El tratamiento térmico tiene un efecto doble sobre las leguminosas. Por una parte, disminuye y elimina la actividad de algunos factores tóxicos o antinutrimientales, mientras que por otro lado, aumenta la disponibilidad de aminoácidos azufrados presentes en altas concentraciones en los inhibidores de tripsina. No obstante, el tratamiento térmico puede disminuir la disponibilidad de algunos aminoácidos en particular la lisina, lo cual es de suma importancia dado que la lisina de las proteínas vegetales disminuye el colesterol plasmático, cuanto menor es el cociente lisina/arginina menor es la incidencia de hipercolesterolemia y arterosclerosis (Torun B; 1996).

3.5.2 Hidratos de Carbono

Los hidratos de carbono son los componentes mayoritarios del frijol negro (Matthews R; 1989). La mayor parte son hidratos de carbono complejos como almidón y fibra dietética, mientras que la fracción de azúcares (mono, di y oligosacáridos) es significativamente menor (Tobar J; 1992).

Los frijoles contienen varios componentes no glicéricos: almidón resistente, polisacáridos de la fracción de fibra dietética y oligosacáridos no digestibles. El conjunto representa aproximadamente el 57.65 % de la materia seca del alimento cocido, siendo la cáscara la de mayor contenido de polisacáridos celulósicos estructurales.

La mayor parte de la fibra es degradada por la microbiota (Saura-Calixto; 1991). Durante el proceso de fermentación se genera Adenosina Trifosfato, ácidos grasos de cadena corta (como propiónico y butírico), gases y se incrementa la proliferación de las bacterias cuya población puede ser modulada con el tipo de sustratos indigestibles presentes en el ecosistema intestinal (oligosacáridos no digestibles, almidón resistente) (Goñi I; 2001).

El ácido propiónico se relaciona con la disminución de colesterol plasmático debido a la inhibición de la colesterologénesis. El ácido butírico es el principal sustrato energético para colonocitos y se ha demostrado que induce apoptosis,

inhibe el crecimiento y diferenciación de células colónicas tumorales (Meyer O; 2001 y Siavoshian S; 2000).

El consumo de frijol como fuente de fibra, produce una mayor saciedad, debido a varias causas una de ellas es el mayor tiempo de ingestión lo que produce una mayor sensación de plenitud intestinal, niveles elevados de colescistocinina, relacionados con reducciones en los niveles plasmáticos de glucosa e insulina en pacientes diabéticos (Bourdon I; 2001).

3.5.3 Lípidos

Aunque el contenido de lípidos es bajo (2.5 %), tiene una elevada fracción de fosfolípidos, que han demostrado tener un efecto hipolipemiante, incluso a bajas concentraciones (Kirsten R; 1993). El ácido linolénico es el ácido graso más abundante en los frijoles (18:2, 9c-12c), es un ácido graso indispensable n-6 muy abundante en el reino vegetal y también animal. Su ingestión está relacionada con un mejor desarrollo cerebral fetal y cognoscitivo del recién nacido, pueden reducir la concentración de triacilgliceroles en la sangre a través de la oxidación de ácidos grasos (Sanhueza J; 2002).

3.5.4 Vitaminas y nutrientes inorgánicos

El frijol negro aporta un alto porcentaje de hierro, 4.70 %, aunque tiene una biodisponibilidad muy baja. Martínez y colaboradores (1998) reportaron un valor de biodisponibilidad *in vitro* de 4.1-9.0 % (Martínez et al. 1998) y Sgarbieri y colaboradores (1979) en un estudio con ratas anémicas reportaron 4.05% (Sgarbieri et al. 1979), posiblemente debido a la presencia de otros componentes no nutritivos presentes en los frijoles, (como lo son los taninos). El fósforo se encuentra en forma de fitatos (aproximadamente en un 50 %), mismos que no son biodisponibles en el intestino (Abb EI; 2003).

Los frijoles negros tienen un alto contenido de ácido fólico y tiamina, vitaminas que reducen los niveles de homocisteína sérica. Esta es una razón más

por la que el consumo de frijol negro puede reducir el riesgo de enfermedad cardiovascular (Serrano J; 2004).

3.5.5 Contenido de factores tóxicos y antinutrimientales

Debido a que algunos de los factores tóxicos y antinutrimientales son de naturaleza proteínica pueden ser destruidos mediante un tratamiento térmico prolongado; hay casos de factores antinutrimientales de bajo peso molecular que presentan termoresistencia como los taninos, las saponinas y los promotores de flatulencia.

3.5.5.1 Taninos

Tanino es el nombre genérico aplicado a una serie de polifenoles que se encuentran en las plantas y se clasifican como hidrolizables y condensados (Sandoval W; 1998). El contenido de taninos en semillas es muy variable y por su sabor astringente se ha supuesto que tienen una función importante en los mecanismos de defensa en las plantas contra insectos y depredadores herbívoros (Trugo L; 1998).

Los principales efectos antinutrimientales que provocan los taninos incluyen pérdida de peso, y menor utilización de la proteína (dependiendo de la dosis en la que se consuman), siendo el efecto de los taninos hidrolizables más evidente que el de los taninos condensados.

Los taninos condensados son oligómeros y polímeros de monómeros de polihidroxi flavanol unidos por enlaces 4→6 ó 4→8. Los polímeros son dispersos y las cadenas son irregulares, algunas veces ramificadas y regularmente contienen más de un tipo de unidad base configuracional. Los taninos condensados son relativamente inestables en solución acuosa y forman complejos con iones metálicos y proteínas.

El grupo orto-dihidroxil en el anillo B del flavonoide de los taninos es el principal grupo involucrado en la complejación de metales. Estudios potenciométricos y espectrofotométricos han demostrado que el Fe III forma complejos mono, di y tri dentados con los taninos, al igual que el Al III. Algunos metales divalentes forman complejos bien definidos con orto-difenoles aunque los complejos con los taninos están menos estudiados (Hemingway R; 1992).

3.5.5.2 Lectinas o hemagglutininas

Las lectinas o hemagglutininas son glicoproteínas que pueden interactuar de manera muy específica con ciertos hidratos de carbono, éstos pueden ser azúcares libres o residuos existentes en polisacáridos, glicoproteínas o glicolípidos como se encuentran en la membrana celular (Valle P; 1986).

Se ha estudiado la estructura química de algunas lectinas, y se ha encontrado que son glicoproteínas que contienen cationes divalentes (Mn, Ca, Zn). Algunas se pueden separar en subunidades que pueden ser de uno o dos diferentes tipos. En el caso del frijol se pueden diferenciar cinco proteínas heterogéneas, lo que hace que la toxicidad de cultivos sea diferente en cada caso (Linder E; 1995).

Dado que son proteínas presentan termosensibilidad, por lo que su efecto tóxico puede ser eliminado mediante el proceso convencional de cocción (Ramírez G; 1996).

3.5.5.3 Inhibidores de proteasas

Los inhibidores de proteasas son sustancias que reducen la actividad enzimática, en el caso de los inhibidores de tripsina reducen la actividad a la tripsina y se encuentran presentes en algunas leguminosas y cereales. Al someterse a un tratamiento térmico adecuado se puede destruir su efecto o por lo menos disminuirlo, ya que estos factores presentan, dependiendo del tipo de inhibidor, cierta termoestabilidad elevada; se ha reportado que la actividad

original se puede conservar entre el 50 y el 80 % después de un tratamiento térmico. Esta estabilidad se atribuye al alto contenido de cisteína y enlaces disulfuro presentes en ciertos tipo de inhibidores de tripsina (Sousa H; 1993).

Se ha demostrado que la acción antitripsina eleva la pérdida de nitrógeno en las heces pero que este nitrógeno no solo es de origen alimentario, sino que buena parte proviene de la estimulación de la secreción pancreática que depende de la colecistoquinina-pancreozimina, cuya liberación es inducida por la disminución de enzimas proteolíticas libres presentes en la luz intestinal, debida a la formación de complejos enzima-inhibidor irreversibles, lo que provoca una hipertrofia de este órgano. Otros efectos antinutricionales son la inhibición del crecimiento por propiciar la indisponibilidad de aminoácidos (Ramírez G; 1996).

3.6 Calidad de las Proteínas

Las proteínas están compuestas de aminoácidos, sus unidades más simples, algunos de los cuales son indispensables en la dieta; es decir, que necesariamente deben ser ingeridos junto con la dieta, ya que el cuerpo no es capaz de sintetizarlos. El número y la secuencia de los aminoácidos es una información contenida en los genes y tiene influencia sobre los niveles estructurales. Las proteínas poseen diversas funciones biológicas en el organismo, actuando como: enzimas, parte del sistema defensivo, componentes estructurales, transporte de otras moléculas, funciones homeostáticas, contráctiles, reserva, reguladoras u hormonales y receptores (Brody T; 1999).

Las proteínas poseen estructuras tridimensionales bien definidas, constituyendo la denominada conformación de una proteína, que guarda relación con su función biológica. Se conoce cuatro niveles de estructuras: primaria, secundaria, terciaria y cuaternaria (Bowman B; 2001).

En los alimentos influyen en la textura y en las propiedades reológicas, y contribuyen a las propiedades sensoriales de los mismos. A medida que pasa el

tiempo se aumentan las investigaciones encaminadas al aprovechamiento de proteínas de fuentes no convencionales, debido a la escasez de alimentos ricos en proteína sobre todo en los países en vías de desarrollo, de tal manera que se puedan satisfacer las necesidades de este nutrimento en poblaciones de escasos recursos (Baduí D; 1990).

Parte de la calidad de las proteínas de los alimentos depende de su contenido de aminoácidos indispensable. La Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) ha planteado que la proteína de un alimento es biológicamente completa cuando contiene todos los aminoácidos en una cantidad igual o superior a la establecida para cada aminoácido requerido en una proteína de referencia o patrón (FAO; 1994).

Las proteínas biológicamente incompletas son las que poseen uno o más aminoácidos limitantes, es decir, que se encuentran en menor proporción con relación a la proteína de referencia o patrón, disminuyendo su utilización. Ello es especialmente importante en las proteínas contenidas en alimentos de origen vegetal como cereales y leguminosas por su elevada contribución al aporte proteínico total (Gandarillas M; 2002).

Entre los aminoácidos limitantes, la lisina es fundamental, puesto que está en baja proporción en los alimentos de origen vegetal, pero no así en los alimentos de origen animal. Sin embargo, existe la evidencia de que la proteína de origen vegetal combinada de manera equilibrada, es suficiente para cubrir los requerimientos mínimos de aminoácidos, de lisina en particular (Melvin H; 2002).

3.6.1 Medición de la calidad nutritiva de las proteínas

Para determinar la calidad nutritiva de una proteína se utilizan diferentes métodos: biológicos y químicos. Dentro de los biológicos se clasifican de acuerdo a su balance de peso corporal y balance de nitrógeno.

El método comúnmente utilizado en las evaluaciones de la calidad nutricional de las proteínas, ha sido la relación de eficiencia proteínica (REP), el cual está basado en la alimentación a corto plazo (28 días) de ratas recién destetadas. La respuesta a las dietas se expresa en términos de ganancia de peso por unidad de proteína consumida. El valor de relación de eficiencia proteínica (REP) obtenido se compara con el de una proteína de referencia, que es la caseína, que en condiciones estandarizadas se asume posee un valor de 2.5 (FAO; 1994).

Aunque la estimación de la relación de eficiencia proteínica (REP) ha sido el método más aplicado para evaluar la calidad de las proteínas, tiene ciertas limitaciones. La principal fuente de error consiste en utilizar la ganancia de peso como el único criterio de valor proteínico y considerar que toda la proteína ingerida se destina al crecimiento sin considerar la que se destina a mantenimiento.

Otro ensayo que también mide la ganancia en peso, es la Relación Neta de la Proteína (RNP), éste compara el contenido de proteína ingerida, entre un grupo de animales que recibieron una dieta experimental y otro grupo que recibió una dieta exenta de nitrógeno. La FAO / OMS lo define como “peso ganado por un grupo de animales en prueba y el peso perdido de un grupo control por gramo de proteína consumida” (FAO; 1994).

La medición de la calidad de la proteína también se determina mediante el cálculo de la cantidad de la misma que realmente utiliza un organismo. La Utilización Neta de Proteína (Net Protein Utilization, NPU) es el método usado más frecuentemente para este fin, es una medida de la cantidad o porcentaje de proteína que se retiene en relación con la consumida (Bowman B; 2001).

Recientemente se ha propuesto otro tipo de medición: la calificación de aminoácidos corregida para la digestibilidad de la proteína, que por sus siglas en inglés recibe el nombre de PDCAAS (Protein Digestibility Corrected Amino Acid Store). La Organización Mundial de la Salud y la FDA de Estados Unidos en 1993

adoptaron esta PDCAAS como el análisis oficial para valorar la calidad de la proteína, ya que está basado en:

1. El contenido de aminoácidos de una proteína alimentaria.

2. La digestibilidad.

3. La capacidad para suministrar aminoácidos indispensables en cantidad suficiente para cubrir los requerimientos de los seres humanos (Suárez A; 2006).

Para cumplir con los requerimientos proteínicos más rigurosos, el PDCAAS compara el perfil de aminoácidos de una proteína en estudio con las necesidades del niño mayor a un año que representan los requerimientos más exigentes de los diferentes grupos dietarios a excepción de los lactantes que se comparan con la leche humana.

El PDCAAS más alto que puede recibir una proteína es 1.0. Esta puntuación significa que tras su digestión proporciona por unidad de proteína, el 100 % o más de los aminoácidos indispensables requeridos por un preescolar de 2 a 5 años (Schaafsma G; 2005).

Las puntuaciones por encima de 1.0 son redondeadas a 1.0. Cualquier aminoácido que exceda los requerimientos para construir y reparar los tejidos no se usará para la síntesis de las proteínas, sino que será catabolizado y eliminado del organismo o bien será almacenado en forma de grasas. El PDCAAS se calcula multiplicando el valor correspondiente al score por el valor correspondiente a la digestibilidad (Fennema O; 2000).

3.7 Densidad energética de los alimentos

Los requerimientos de energía de un individuo, o cualquier organismo superior, deben ser proporcionados por los alimentos.

El requerimiento energético humano responden a la necesidad de:

- mantener la temperatura corporal constante,
- atender al trabajo de ciertos órganos y glándulas,

- crecer en una determinada época de la vida y
- reponer el desgaste diario de los tejidos (metabolismo).

Existen diferentes tipos de energía. La energía bruta (EB) contenida en los alimentos no es aprovechada en su totalidad por el organismo; en efecto, una parte de la energía ingerida se pierde debido a la incompleta digestión de los alimentos. Esta energía puede calcularse a través del calor producido por el cuerpo, que es consecuencia de la oxidación de los nutrimentos.

Se denomina energía digerible (ED) a la diferencia entre la energía bruta ingerida y la energía bruta contenida en las heces. El principal factor que afecta a la digestibilidad de los nutrimentos energéticos es el contenido en fibra de las raciones; la digestibilidad habitual de la energía contenida en las raciones de los monogástricos es del 80-85 %, y la de los monogástricos herbívoros del 60-70 %, ya que estas raciones suelen contener bastante fibra.

La energía digerible (ED) sobrevalora el contenido energético real de la proteína del alimento (ya que parte de esta energía digerible se va a perder en las desaminaciones de los aminoácidos) y de la fibra (ya que parte se digiere en el intestino grueso, absorbiéndose ácidos grasos volátiles de bajo valor energético), y valora el valor energético real de los lípidos (ya que su metabolización produce poca energía) (Mora B; 2007).

3.8 Calcio

El calcio es un nutrimento muy importante por ser constituyente esencial del esqueleto y por ser un elemento que protagoniza funciones esenciales de la vida de todas las células del organismo como son el regular la transmisión nerviosa, intervenir en la contracción de fibras musculares, entre otras (Flores J; 2005).

La retención de calcio en el organismo aumenta hasta un valor durante la infancia, la retención diaria de calcio es de 150 a 200 mg y puede alcanzar niveles hasta de 400 a 500 mg en la pubertad, más allá del cual ingestiones adicionales

no ocasionan incrementos en la retención o en la masa ósea. El requerimiento de calcio para la mujer posmenopáusica, tratada con estrógenos, se encuentra entre 1000 y 1500 mg/día. La absorción fraccional durante este tiempo es muy eficiente y se estima alrededor del 40 % (Hernández-Triana; 1999).

Durante el proceso de envejecimiento las mujeres tienden a perder a menudo el calcio de los huesos. Esto resulta frecuentemente en la desmineralización (osteoporosis) de los huesos. La osteoporosis, que afecta a 26.1 % de personas al año en México, ocurre cuando la resorción del hueso viejo excede la deposición del hueso nuevo. El adelgazamiento del hueso lo hace poroso y contribuye a su fractura potencial (Caruci N; 2005).

En niños, la adquisición de la masa ósea es lenta. En esta etapa, el calcio es importante para evitar la aparición como el raquitismo (Palacios C; 2007).

3.9 Hierro

El hierro es el elemento traza más abundante en el organismo animal y ser humano, y el segundo metal más abundante en la corteza terrestre. Como parte de la hemoglobina, el grupo hemo (y por tanto, el hierro) es necesario para transportar oxígeno desde los pulmones hasta los tejidos; también es componente de enzimas que contienen grupos hemo como lo son citocromos, catalasa y peroxidadasas (Martínez C; 1999).

El hierro presente en los alimentos se encuentra en forma de hierro hemo o bien en hierro no-hemo, el primero se caracteriza por su alta solubilidad, que permite la fácil absorción por la mucosa intestinal que cuenta con receptores específicos para su absorción, lo que hace que su biodisponibilidad sea alta. El hierro hemo se encuentra fundamentalmente en tejidos animales: carne de cerdo, de res, aves y pescados y el no hemo tanto en alimentos de origen vegetal, como en productos lácteos y huevo. Para su absorción intestinal este último debe unirse a una molécula transportadora de metales divalentes (DMT-1) (Dallman P; 1990).

Los grupos de la población que poseen una mayor probabilidad de sufrir deficiencia de hierro, corresponden a aquellos grupos poblacionales en los que existe un inadecuado consumo y/o asimilación de hierro de la dieta, asociado a un aumento de su demanda. Entre estos se encuentran los lactantes, niños pequeños, adolescentes, mujeres embarazadas y mujeres en edad reproductiva.

En el caso de los lactantes y niños pequeños la prevalencia de la deficiencia de hierro es mayor entre los cuatro meses y de los 2 a 3 años de edad, debido a que se combina el consumo de una dieta pobre de hierro y de baja biodisponibilidad, con una mayor demanda de este nutriente.

Durante el periodo de la adolescencia la deficiencia de hierro se debe al rápido crecimiento que caracteriza a esta etapa, ya que los adolescentes aumentan entre 9 y 10 kilogramos por año (Salgado-Martínez; 2008).

En mujeres de edad fértil, la principal causa que predispone a este grupo a sufrir deficiencia de hierro es la pérdida excesiva de sangre durante la menstruación. Durante el embarazo las necesidades de hierro son mayores, ya que en algunos casos durante el segundo y tercer trimestre de gestación los requerimientos de hierro no pueden ser cubiertos únicamente por la dieta (Dallman P; 1990 y Martínez C; 1999).

La deficiencia de hierro con o sin anemia afecta la calidad de la vida de diversas formas, ya que en cualquier tipo de células (cerebro, músculo, entre otras.) el hierro es indispensable para la generación de energía. Su deficiencia se manifiesta en menor capacidad de hacer labores que demandan actividad física o mental y en dificultad para mantener la temperatura corporal en ambientes fríos, Por señalar un ejemplo, basta decir que un análisis publicado en el 2003 (Horton S; 2003), el cual incluyó a 10 países pobremente industrializados, mostró una disminución de 5 y 17 % en labores manuales leves y pesadas, respectivamente, y de 4% en labores que demandan atención mental en poblaciones con anemia. (Horton S; 2003).

Cuando la mujer presenta anemia por deficiencia de hierro, en el primero y segundo trimestre de la gestación, se produce un incremento en la tasa de parto pre-término, bajo peso al nacer y, en casos extremos, se registra aumento de la mortalidad materna e infantil. En niños de edad escolar, se ha demostrado que la anemia causa disminución en la actividad motora, el rendimiento escolar y la socialización (Khan K; 2006 y Grantham; 2001).

IV. METODOLOGÍA

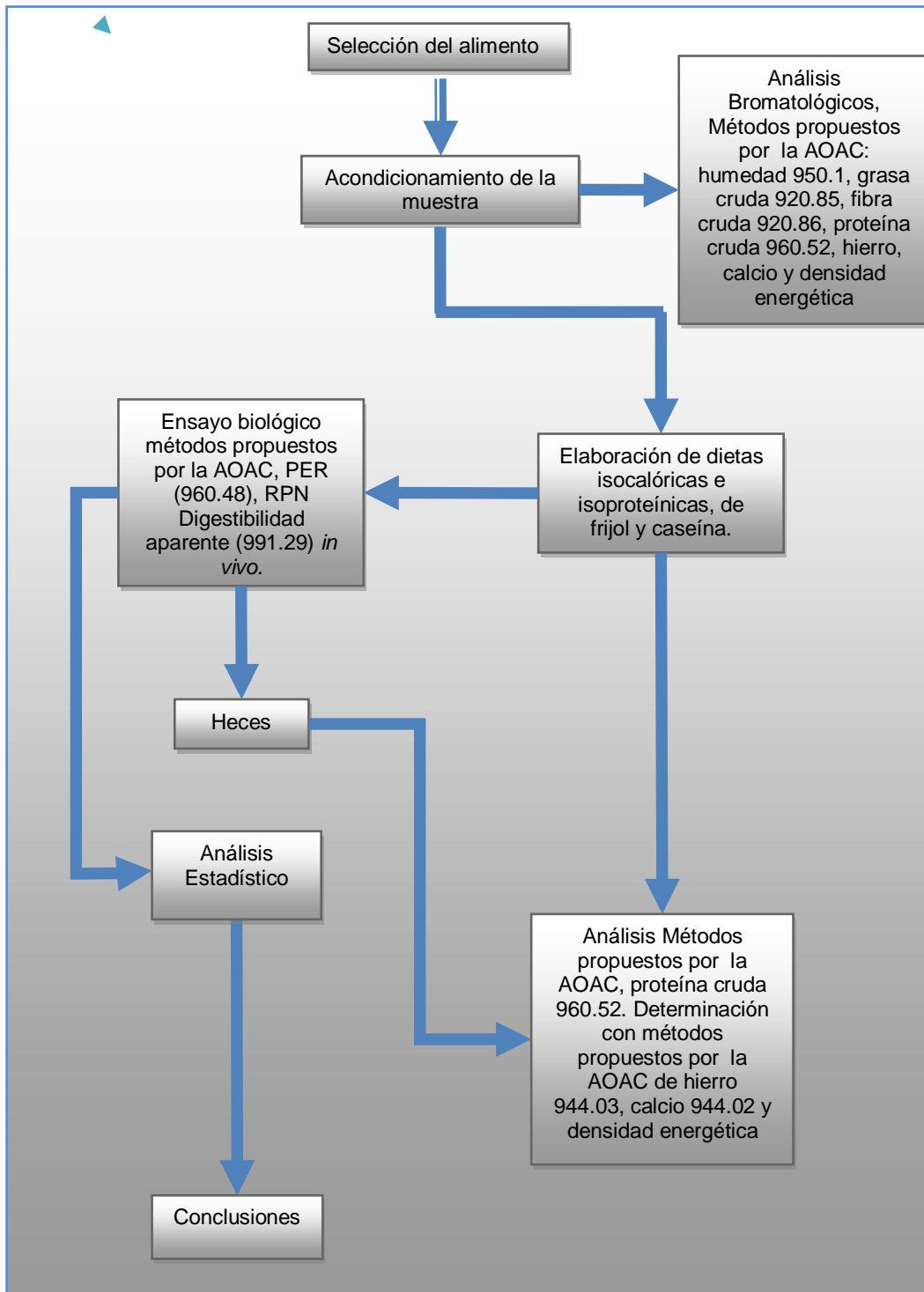


Figura 3 Diagrama general de la metodología

4.2 Selección de la muestra

Muestra: Frijol negro Jamapa, Marca: Morelos Insurgentes, Lugar de compra: tienda UNAM. La marca se eligió por ser de origen nacional. Se trabajó con frijol negro por ser la leguminosa de mayor consumo en México, además de ser en algunas partes la principal fuente proteínica.

4.3 Acondicionamiento de muestra

Se trabajó con 5 kg de frijol negro, el cual se limpió de impurezas (piedras y/o basura), fueron lavados y remojados por 16 horas. Posteriormente, se sometieron a cocción en olla de peltre por 4 horas aproximadamente agregando dos litros de agua por cada 1 kg de frijol, evitando que tuvieran un sobrecalentamiento para no dañar sus componentes.

Se pasaron por una coladera para separar a los frijoles del agua de cocción. Se colocaron en charolas y se secaron en un horno Thermolyne a 60° C por 24 horas. Una vez secos, los frijoles se dejaron enfriar para ser molidos en licuadora, hasta obtener una harina que pasara por tamiz de malla # 20. La harina se homogeneizó y almacenó en botes de plástico con cierre hermético, refrigerada a 5 °C hasta su uso.

4.4 Análisis bromatológico.

El análisis bromatológico consistió en determinar el contenido de humedad, cenizas, proteína cruda, grasa cruda y fibra cruda y por diferencia se calcularon los hidratos de carbono asimilables.

Para el análisis proximal se usaron las metodologías propuestas por la AOAC (2005).

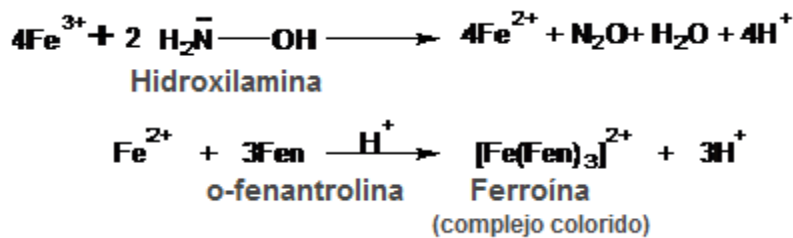
- Humedad (AOAC 950.01).
- Cenizas (AOAC 923.03).

- Proteína cruda (AOAC 960.52).
- Grasa cruda (AOAC 920.85).
- Fibra cruda (920.86).
- Hidratos de carbono por diferencia.

4.5 Determinación de hierro (AOAC 2005, 944.02)

FUNDAMENTO

El hierro presente es parte de las cenizas después de la calcinación. Se redisuelve con HCl y se reduce de Fe^{3+} a Fe^{2+} con ayuda del clorhidrato de hidroxilamina. La forma reducida genera un compuesto de color rojo con la o-fenantrolina estable a pH de 4 que absorbe a 530 nm.



MATERIAL

Celda de plástico de 1cm, volumen de 3 mL
 Crisoles de porcelana
 Desecador
 Embudo de tallo corto
 Matraz aforado de 50 mL
 Mechero Bunsen
 Papel filtro Whatman # 1
 Pinzas para crisol
 Pipetas graduadas de 1, 5 y 10 mL
 Vasos de precipitado de 50 mL

REACTIVOS

Acetato de sodio anhidro R.A.

Ácido acético R.A.

Ácido clorhídrico R.A.

Clorhidrato de hidroxilamina R.A.

o-fenantrolina R.A.

Sulfato de hierro y amonio hexahidratado [Fe (NH₄)₂(SO₄)₂ 6H₂O; P.M. 392.14 g] R.A.

EQUIPO

Balanza Denver Instrument

Espectrofotómetro Thermo Scientific, Genesys 10 UV.

Mufla "Thermolyne" type 1500.

PREPARACION DE REACTIVOS

I) Solución de clorhidrato de hidroxilamina 10%(p/v): se disolvieron 10 g de la sal en agua destilada y se aforó a un volumen de 100 mL.

II) Solución buffer de acetatos, pH 4: se disolvieron 8.3 g de acetato de sodio en 12 mL de ácido acético concentrado. Se aforó a 100 mL con agua destilada.

III) Solución de *o*-fenantrolina 0.1%: se disolvieron 0.1 g en 80 mL de agua destilada a 80°C, se enfrió y se aforó a 100 mL con agua destilada.

IV) Solución estándar de hierro (0.01 mg/mL): se disolvió 3.512 g de sulfato de hierro y amonio [Fe (NH₄)₂(SO₄)₂ 6H₂O; P.M. 392.14 g] en agua destilada adicionando previamente unas gotas de HCl y se aforó a 500 mL. Se tomaron 10 mL de dicha solución y se aforó a 1L con agua destilada.

PROCEDIMIENTO

Preparación de la muestra.

Se pesaron 3 g de muestra acondicionada en un crisol (a peso constante). Primero se carbonizó la muestra con mechero bajo campana de extracción y posteriormente se incineró en mufla a 550 °C hasta que se obtuvo un color homogéneo. Se llevaron a la campana de extracción para dejarlos enfriar, después se adicionaron 2 mL de HCl concentrado y se colocaron los crisoles en una parrilla eléctrica hasta que éstos llegaran a sequedad. Se volvió a añadir 1 mL de HCl concentrado y 3.5 mL de agua destilada.

Se transfirió cuantitativamente el líquido a un matraz aforado de 50 mL, lavando el crisol con agua destilada por dos o tres veces más, pasando los líquidos de lavado al matraz, se llevo al aforo y posteriormente se filtró con papel filtro Whatman #1.

Del filtrado se tomaron dos alícuotas de 10 mL colocándose en tubos de ensaye cada una para adicionar los reactivos en el siguiente orden: 1 mL de clorhidrato de hidroxilamina (solución I); 5 mL de buffer de acetatos (solución II) y 1 mL de o-fenantrolina (solución III) se agitaron los tubos entre cada adición. Se dejó reposar la mezcla de reacción entre 10 y 15 minutos y posteriormente se midió la absorbancia en el espectrofotómetro a 530 nm.

Elaboración de la curva estándar:

Se depositaron diferentes cantidades (0.0, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 6.0 y 8.0 mL) de la solución estándar de hierro (solución IV) en tubos de ensaye, se ajustó cada uno de los tubos a un volumen de 10 mL con agua destilada y añadiendo como se indica en el párrafo anterior las soluciones I, II y III.

CÁLCULOS

Se interpoló la lectura de absorbancia de la muestra en la curva estándar para calcular la cantidad de hierro presente en la alícuota. El contenido de hierro (mg) presente en 100 g de muestra, se determinó considerando el aforo y el peso de la muestra con base en la siguiente ecuación:

$$C = \frac{x \times A \times 100}{w}$$

Donde:

C = mg Fe/100 g muestra.

x = concentración de hierro expresada en mg/mL .

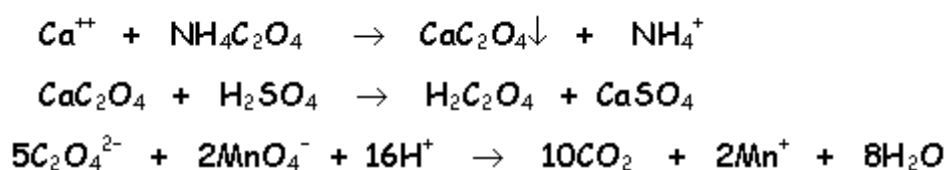
A = Aforo de 50 mL.

W = g de la muestra.

4.5.1 Determinación de calcio (AOAC 2005, 944.03)

FUNDAMENTO

El ión calcio es precipitable cuantitativamente como oxalato de calcio, mediante la acción del oxalato amónico. El precipitado de oxalato cálcico es soluble en ácido sulfúrico, pasando a la forma de ácido oxálico. El cual se valora con una disolución titulada de permanganato potásico:



MATERIAL

Bureta de 25 ml
Crisol de filtración, vidrio SCHOTT DURAN
Crisoles de porcelana
Desecador
Embudo de tallo corto
Matraz aforado de 50 mL
Matraz Erlenmeyer 250 mL
Matraz kitasato de 150 mL
Pinzas para bureta
Pinzas para crisol
Pipetas graduadas de 1, 5 y 10 mL
Vasos de precipitado de 50mL

REACTIVOS

Acido clorhídrico 0.1 M
Acido sulfúrico
Hidróxido de amonio R. A.
Oxalato de amonio R A.
Permanganato de potasio R. A.
Rojo de metilo R. A.

EQUIPO

Balanza Denver Instrument
Mufla "Thermolyne" type 1500 furnace
Parrilla de calentamiento marca BARNSTEAD INTERNATIONAL

PREPARACION DE REACTIVOS

- I) Solución de H_2SO_4 al 20 %: se agregaron 5 mL de H_2SO_4 concentrado a 125 mL de agua destilada.
- II) Solución saturada de oxalato de amonio con solubilidad agua a 50C de 11.8 g/100 g: a 1L de agua destilada se agregó oxalato de amonio.
- III) Solución rojo de metilo 1%: se disolvió 1 gramo de rojo de metilo, en 100 mL de alcohol etílico.
- IV) Acido clorhídrico 0.1 N: Se midió 2.1 mL de HCl concentrado, y se agregó lentamente a 247.9 mL de agua destilada.
- V) Solución de KMnO_4 0.1 N: se pesó 3.16 g de KMnO_4 se disolvió con agua destilada, se trasvasó a un matraz aforado de 1 L y se llevo al aforo con agua destilada.

PROCEDIMIENTO

Se pesaron 3 g de muestra acondicionada en un crisol (a peso constante), primero se calcinó con mechero bajo campana de extracción y posteriormente fueron incineradas en mufla a 550°C hasta que se obtuvieron las cenizas de un

color homogéneo. Se dejaron enfriar los crisoles para después adicionarles 2 mL de HCl concentrado, calentando en una parrilla hasta sequedad en la campana de extracción. Se volvió a añadir 1 mL de HCl concentrado y 3.5 mL de agua destilada.

Se pasó cuantitativamente el líquido a un matraz aforado de 50 mL, lavando el crisol con agua destilada por dos o tres veces más, pasando los líquidos de lavado al matraz, se filtró y se llevo al aforo. Se transfirieron 25 mL de la solución a un vaso de precipitados de 250 mL, se calentó a ebullición y se adicionaron 10 mL de solución saturada de oxalato de amonio y unas gotas de indicador rojo de metilo. Se dejó enfriar y se le adicionó hidróxido de amonio gota a gota hasta llegar al punto de neutralización.

Se dejó hervir hasta que precipitó el oxalato de calcio. Se retiró de la parrilla para enfriar y para adicionar HCl diluido, gota a gota hasta obtener coloración rosa (pH 5) dejando en reposo toda la noche. Se filtró usando un crisol de filtración vidrio Schott Duran, se hicieron 3 lavados con agua destilada caliente (aproximadamente de 25 mL cada uno), se desechó el agua recuperada, el precipitado que quedó en el embudo se lavó con una disolución de H₂SO₄, recuperándolo en un matraz limpio.

La solución recuperada se calentó a 70° C, para ser titulada con la solución KMnO₄ 0.1 N hasta que se obtuvo una coloración rosa permanente. La AOAC indica la equivalencia de 1 mL de KMnO₄ 0.1N = 2mg de Ca.

CÁLCULOS

$$\frac{mg \text{ calcio}}{100 g} = \frac{(mL \text{ KMNO}_4 \text{ gastados}) (2 mg \text{ Ca}) (A)}{(1mL \text{ KMnO}_4) (a) (W)} \times 100$$

Donde:

KMnO₄ = mL gastados en la titulación.

A = Aforo (mL).

W = Peso de muestra gramos de muestra.

a = alícuota 25 mL..

4. 6 Ensayos Biológicos REP, RNP y Digestibilidad

Para evaluar la calidad proteínica se realizaron tres pruebas biológicas y para ello se prepararon las siguientes dietas.

4.6.1 Elaboración de dietas

Con los datos obtenidos en el análisis bromatológico se realizaron cálculos necesarios para la elaboración de seis dietas isoenergéticas (18.0 kJ/g) e isoproteínicas (10% proteína) con respecto a la dieta de referencia caseína (ver tabla 1) y una dieta de mezcla con frijol negro y maíz en una relación proteínica 50:50.

Tabla 1. Formulación de las diferentes dietas elaboradas (g / 100 g de dieta).

Dieta/ Componente (g)	Caseína Referencia 81.32 %prot.	Caseína + calcio	Caseína + Hierro	Frijol negro	Frijol negro + calcio	Frijol negro + hierro	FN:HMN ¹ 50:50
Fuente de proteína	12.30	12.30	12.30	54.20	54.20	54.20	FN: 27.1 HMN: 68.5
Sacarosa	22.0	22.0	22.0	10.60	10.60	10.60	-
Glucosa	19.0	19.0	19.0	9.16	9.16	9.16	-
Dextrina	25.0	25.0	25.0	12.05	12.05	12.05	-
Manteca	8.0	8.0	8.0	6.90	6.90	6.90	5.60
Aceite de maíz vegetal	6.0	6.0	6.0	5.17	5.17	5.17	4.20
Mezcla de Sales ²	2.0	2.0	2.0	0.52	0.52	0.52	0.40
Vitamina ²	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Colina ²	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40
Celulosa ²	4.30	4.16	4.27	-	-	-	-
Calcio ²	-	0.14	0.0	-	0.140	-	-
Hierro ²	-	-	0.035	-	0.00	0.035	-

1. 50:50 FN+HMN: 50:50 frijol negro + harina de maíz nixtamalizada

2. Ver anexo 350:50 FN+HMN: 50:50 frijol negro + harina de maíz nixtamalizada

4.6.2 Relación de Eficiencia Proteínica (REP AOAC 2005, 960.48)

MATERIAL

Balanza granataria para dieta

Balanza granataria para animales de laboratorio

Charolas de papel estraza

Colador

Comederos y bebederos

Franela

Jaulas individuales de acero inoxidable

Dietas

Dietas de referencia (Caseína, caseína +calcio y caseína + hierro)

Dietas de frijol negro, frijol negro +calcio, frijol negro +hierro (isoproteínica e isoenergética con respecto a la dieta estándar que fue la caseína).

Dieta frijol negro + harina de maíz nixtamalizada (proteína50:50).

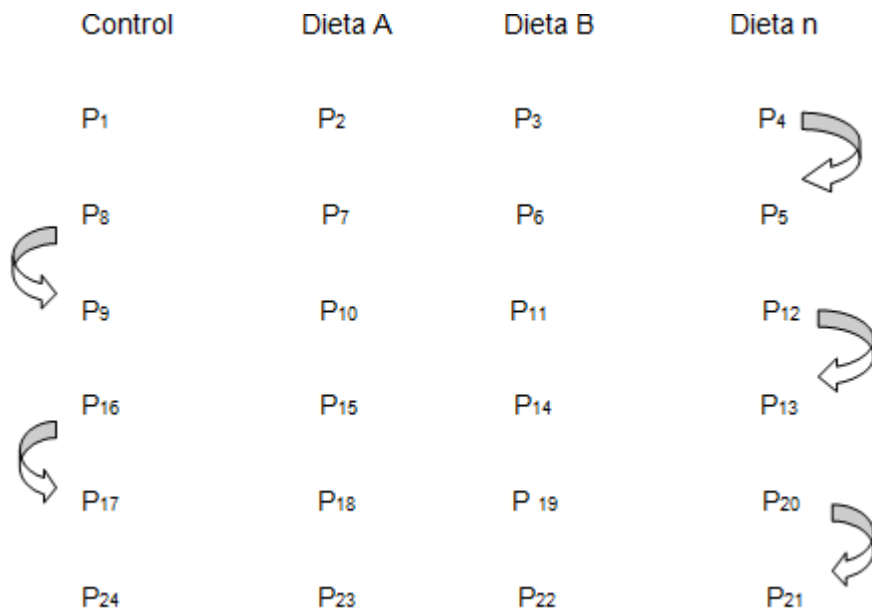
PROCEDIMIENTO

El número de ratas para cada lote de las dietas de estudio y de las de referencia fue de 6, tres machos y tres hembras. Todos los animales se pesaron y después se ordenaron los pesos de forma ascendente:

P1, P2, P3, P4, P5, P6, P7, P8, P9,.....Pn

Se colocaron los animales en las jaulas individuales del rack siguiendo la distribución de “culebra japonesa” como se indica. Ver siguiente pagina.

Una vez distribuidos los animales en las jaulas individuales se les colocó el comedero con la dieta correspondiente, en cantidad que siempre estuviera en exceso para que su consumo fuera *ad libitum*. Lo mismo se hizo con el bebedero.



Como las ratas al alimentarse tienden a desperdiciar alimento, se colocó debajo de cada jaula una charola hecha con papel estraza, para recuperar este alimento separándolo de las heces con la ayuda de una coladera y considerar la cantidad real de alimento que ingirieron. Los animales se pesaron cada tercer día (lunes, miércoles y viernes) y se registró el peso de cada rata y el alimento ingerido considerando el alimento recolectado de la charola de papel. Esto se realizó durante los 28 días que duró el experimento.

CÁLCULOS

Contando con los resultados al final del experimento, se procedió a calcular la REP de cada uno de los animales, de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$REP_i \frac{\Delta P_i}{\sum Al_i X F} = \frac{\Delta P_i}{(Proteína Ingerida)}$$

Donde

ΔP_i = peso final – peso inicial de cada rata (al final de los 28 días) expresada en g.

Al_i = alimento ingerido individualmente durante los 28 días del estudio, expresada en g.

F = % de proteína presente de la dieta / 100.

Para calcular la REP ajustado, tomando en cuenta el REP de caseína experimental, se realizó de forma individual para cada animal fórmula 1. Y de manera grupal fórmula 2.

Fórmula 1

$$(REP_{\alpha})_i = REP_i \frac{REP \text{ Caseína}_{STD}}{REP \text{ Caseína}_{EXP}}$$

Formula 2

$$REP_{\alpha} = \frac{\sum_{i=1}^n (REP_{\alpha})_i}{n} \pm \sigma$$

Donde

REP EXPERIMENTAL = REP de la proteína a evaluar.

REP CASEÍNA_{STD} = REP de caseína estandarizado = 2.5.

REP CASEÍNA_{EXP} = REP de caseína obtenido en el experimento.

4.6.2 Determinación de la Relación Neta de la Proteína (RNP)

FUNDAMENTO

Es un método corto, usa una dieta libre de nitrógeno que produce pérdida de peso corporal, lo cual es equivalente a las necesidades proteínicas para el mantenimiento. Para determinar el valor de digestibilidad se requiere calcular el contenido de nitrógeno del alimento; el alimento total consumido, el nitrógeno en heces y el peso total de heces.

PROCEDIMIENTO

Las dietas empleadas fueron las mismas que se usaron en el REP.

Por cuestiones de bioética el lote de la dieta libre de nitrógeno (DLN) no se realizó experimentalmente, evitando así el estrés y sufrimiento de los animales,

por lo que se determinó el incremento del peso (ΔP) del lote de DLN empleando el modelo matemático presentado en el trabajo de tesis de licenciatura de Venegas 2011.

CÁLCULOS

Se calculó el promedio del peso inicial de la camada de animales utilizado en el ensayo biológico y se sustituyó en la ecuación propuesta.

La ecuación usada de acuerdo al trabajo (Venegas 2011):

$$Y = -0.114 (X) - 1.461$$

Donde

X= Peso promedio inicial.

Y= ΔP (que corresponde a la dieta libre de nitrógeno DLN).

El valor que se obtuvo corresponde al ΔP de la dieta libre de nitrógeno DLN, éste se sustituyó en la ecuación de RNP obteniendo así el valor final.

A partir de los resultados al final de los diez primeros días de experimentación, se procede a calcular la RPN de cada una de los animales, de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$RNP_i = \frac{\Delta P_i - Y}{\sum AL_i \times F}$$

Donde:

ΔP_i = incremento de peso en el periodo de 10 días con la dieta de prueba (g)

Y = ΔP calculado teóricamente con la ecuación propuesta.

$\sum AL_i$ = alimento ingerido en el periodo de 10 días (g).

F = factor de conversión unitario de alimento a proteína (% de proteína en la dieta / 100).

El manejo de los datos es similar al de la prueba de REP.

Cálculo de RNP ajustado individual, tomando en cuenta el RNP de caseína experimental (primera fórmula), y segunda fórmula RNP ajustado por cada dieta.

$$(RNP_{\alpha})_i = RNP_i \frac{RNP \text{ Caseína }_{STD}}{RNP \text{ Caseína }_{EXP}}$$

$$RNP_{\alpha} = \frac{\sum_{i=1}^n (RNP_{\alpha})_i}{n} \pm \sigma$$

Donde:

$RNP_{\text{Experimental}}$ = RNP experimental de la proteína a evaluar de cada animal.

$RNP_{\text{CASEÍNA}_{STD}}$ = RNP de caseína estandarizado de cada animal = 4.1.

$RNP_{\text{CASEÍNA}_{EXP}}$ = RNP de caseína experimental de cada animal.

4.6.3 Digestibilidad aparente AOAC 2005, 991.29

FUNDAMENTO

La digestibilidad de un alimento es la relación del nitrógeno absorbido con respecto al ingerido, expresado en porcentaje. Para determinar el valor de digestibilidad de nitrógeno aparente en una dieta se requiere calcular el contenido de nitrógeno del alimento, el alimento total consumido, el nitrógeno en heces y el peso total de las heces, en el periodo de tiempo establecido.

MATERIAL

Coladera

Frascos de vidrio de boca ancha con tapa de aproximadamente 200 mL

Mortero con pistilo

EQUIPO

Balanza analítica Denver Instrument
Digestor BUCHI Digest Sistem K437

PROCEDIMIENTO

Dentro del mismo ensayo biológico para la determinación del REP, a partir de la última semana (los últimos 7 días) se recolectaron las heces en forma individual de los animales. El total de heces de cada animal en el periodo indicado se colocó en un recipiente de vidrio. Una vez secas se molieron para obtener el material lo más homogéneo posible. Con las heces homogéneas de cada animal, se tomó una muestra representativa del total para determinarles la concentración de nitrógeno por microKjeldahl siguiendo la metodología según la AOAC 960.52 (2005).

Para calcular la digestibilidad, se requirió conocer el contenido de nitrógeno de las heces (NF), y el nitrógeno ingerido (NI) durante el mismo periodo (últimos 7 días).

CÁLCULOS

Una vez que se contó con la concentración de nitrógeno de la dieta y de las heces de cada animal, así como el peso respectivo de heces, se calculó el contenido de nitrógeno ingerido (NI) y el nitrógeno fecal (NF) de cada animal de acuerdo a las siguientes fórmulas:

$$NI_i = \frac{\% N_{DIETA} \times \text{Dieta Ingerida}}{100}$$

$$NF_i = \frac{\% N_{HECES} \times \text{Total heces}}{100}$$

Para calcular la digestibilidad aparente en cada animal de experimentación se usó la primer formula. Para realizar el %Da de cada dieta se utilizó la segunda fórmula:

$$\%Da_i = \frac{NI_i - NF_i}{NI_i}$$

$$\%Da = \frac{\sum_{i=1}^n \%Da_i}{n} \pm \sigma$$

Donde

$\% Da_i$ = Porcentaje de digestibilidad aparente de cada animal.

NI_i = Nitrógeno ingerido del animal de experimentación.

NF_i = Nitrógeno fecal del animal de experimentación.

4.7 Determinación de la densidad energética en alimentos y heces.

FUNDAMENTO

El principio en el cual se basa la determinación del contenido energético en la bomba calorimétrica, es en la primera ley de la Termodinámica, la cual se fundamenta en el siguiente enunciado: “La energía en cualquier proceso físico o químico no se crea ni se destruye”. Con base en el principio anterior, la energía en un sistema se puede transformar; por lo tanto, la energía total será la suma de las energías parciales.

MATERIAL.

Crisol de acero inoxidable de 25.4 mm de diámetro (1 pulgada)

Desecador de vidrio

Mecha de algodón de 75 mm de longitud

Mango metálico compactador

REACTIVOS

Ácido benzoico (valor calórico certificado de preferencia de la British Chemical Standards)

EQUIPO

Bomba calorimétrica balística GALLENKAMP, modelo. CBB-330-010L

Balanza analítica (con precisión de 0.1 mg)

PROCEDIMIENTO

Se pesaron entre 500-700 mg de la muestra en forma de harina se colocó en un crisol previamente pesado junto con la mecha de algodón, de tal manera que el hilo quedara introducido dentro de la muestra y se procedió a pesar en una balanza analítica lo que corresponde al peso preliminar (Pp), recomendándose pesar un exceso aproximado del 10% del peso deseado.

Se compactó la muestra con el mango metálico de tal forma que quedara lo más uniforme posible y la mecha quedara introducida dentro de la muestra, sobrando un tramo que sirvió para conectar con el alambre de ignición de la bomba. Se eliminó con mucho cuidado el material que no se compactó y el crisol con la muestra compactada se pesó nuevamente para tener el peso final (Pf).

El crisol se colocó en la base superior del pilar central de la bomba y con mucho cuidado se introdujo la punta suelta de la mecha de algodón en el alambre de ignición.

Se procedió a realizar la combustión, para lo cual se debió revisar que el "O-RING" se encontrara en perfectas condiciones, ya que se debe obtener un cierre hermético. El cierre se realizó colocando el capuchón de la bomba sobre el anillo metálico y se giró hasta que coincidió la rosca con el del capuchón; el sellado se hizo con la fuerza de la mano, sin utilizar herramienta alguna. En seguida se colocó el sensor del termopar en el orificio del capuchón.

Se procedió a abrir la válvula de paso girando $\frac{1}{4}$ a $\frac{1}{2}$ la perilla y se obtuvo una presión dentro de la bomba balística de 25 bars (1 bar= 0.987 atm) en aproximadamente de 20 a 30 s. Una vez alcanzada la presión, se cerró la válvula de paso y se ajustó el galvanómetro, primero con la ayuda del ajuste grueso y posteriormente con el dispositivo de ajuste fino.

Se oprimió el botón de ignición y en 10 a 15 segundos se llevó a cabo la combustión, notándose por un aumento en la presión del manómetro, una vez alcanzado el valor máximo empieza a decaer rápidamente.

La lectura máxima obtenida en el galvanómetro es directamente proporcional al calor liberado en la combustión. Se tomó la lectura a los tres minutos, dado que la curva patrón se realizó a estas condiciones.

Una vez tomada la lectura, se abrió la válvula de salida de los gases de combustión, la cual se localiza en la base de la bomba del lado opuesto a entrada del oxígeno; a la vez, se desconectó el sensor del termopar y una vez liberados los gases de combustión, se abrió la bomba girando el anillo metálico en sentido inverso al cierre. Por último se cerró la válvula de liberación de gases y se enfrió el capuchón de la bomba en un baño de agua fría hasta temperatura ambiente para realizar una nueva determinación.

Elaboración de la curva estándar

Para calcular la densidad energética de la muestra, se elaboró una curva de calibración, para la cual se realizó la combustión de diferentes pesos (0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7 g) de ácido benzoico y se anotó la respectiva lectura del galvanómetro. Se realizó la determinación por triplicado, y una vez obtenida la lectura, se debe convertir a unidades energéticas, para lo cual se usaron las siguientes conversiones:

$$1 \text{ g de ácido benzoico} = 26\,454.3 \text{ J} = 26.45 \text{ kJ}$$

$$4.1868 \text{ kJ} = 1 \text{ kcal}$$

Una vez que se obtuvo la curva de calibración de contenido energético (abscisas) vs lectura del galvanómetro (ordenadas), mediante interpolación se obtuvo la densidad energética de la muestra. La determinación energética en la bomba proporciona la máxima energía potencial que en términos fisicoquímicos corresponde al calor de combustión del respectivo material.

CÁLCULOS

La densidad energética de la muestra se calculó mediante la ecuación de la curva que es la siguiente:

$$\frac{\text{kJ}}{\text{g}} \text{ material (densidad energética)} = \frac{(\text{kJ})}{\text{Peso de la muestra (g)}}$$

4.8 BIODISPONIBILIDAD

Con los datos obtenidos en el ensayo biológico se determinó la biodisponibilidad de calcio, hierro y energía para realizar las comparaciones entre los diferentes lotes alimentados con distintas dietas, usando los datos de cada uno de los animales de experimentación con la dieta que ingirieron y la concentración de hierro, calcio y energía que existió en las heces recolectadas durante los últimos días.

4.8.1 Biodisponibilidad de energía

De forma individual

$$\%ED_i = \frac{(EI_i - EF_i)}{EI_i} \times 100$$

De forma grupal

$$\%EB = \frac{\sum_{i=1}^n \%EB_i}{n} \pm \sigma$$

Donde

EI_i = energía ingerida de cada uno de los animales de experimentación.

EF_i = energía fecal de cada uno de los animales de experimentación.

$\%EBa_i$ = porcentaje de energía digerible de cada uno de los animales de experimentación.

4.8.2 Biodisponibilidad de hierro

De forma individual

$$\%EB_i = \frac{(EI_i - EF_i)}{EI_i} \times 100$$

De forma grupal

$$\%FeB = \frac{\sum_{i=1}^n \%FeB_i}{n} \pm \sigma$$

Donde

FeI_i = hierro ingerido de cada uno de los animales de experimentación.

FeF_i = hierro fecal de cada uno de los animales de experimentación.

$\%FeB_i$ = porcentaje de hierro digerible de cada uno de los animales de experimentación.

4.8.3 Biodisponibilidad de calcio

De forma individual

$$\%CaB_i = \frac{(CaI_i - CaFCaF_i)}{CaI_i} \times 100$$

De forma grupal

$$\%CaB = \frac{\sum_{i=1}^n \%CaB_i}{n} \pm \sigma$$

Donde

CaI_i = calcio ingerido de cada uno de los animales de experimentación.

CaF_i = calcio fecal de cada uno de los animales de experimentación.

% CaB_i = porcentaje de calcio digerible de cada uno de los animales de experimentación.

4.9 Tratamiento estadístico

Con los resultados obtenidos se calcularon: promedio, desviación estándar (DE), además, usando el programa estadístico SPSS Statistics 20.0.0 se realizó un análisis de varianza y una prueba de rango múltiple (DUNCAN) para determinar si existen diferencias significativas entre los lotes de animales alimentados con diferentes dietas, se utilizó para las distintas mediciones de REP, RNP, % Da, biodisponibilidad de hierro, biodisponibilidad de calcio y densidad energética.

V.RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

5.1 Análisis bromatológico

En las tablas no. 2 y 3 se muestra el análisis bromatológico de la harina de maíz nixtamalizado (HMN) y frijol negro, para comparar el contenido de cada uno se realizaron los cálculos para determinar el contenido en base seca. Como era de esperar el frijol presentó un contenido de proteína mayor que el de la harina de maíz nixtamalizada, y ambos fueron alimentos ricos en hidratos de carbono. El contenido de grasa fue mayor en la harina del maíz nixtamalizado, mientras que el contenido de cenizas fue mayor en el frijol negro.

Tabla 2. Comparación de la composición bromatológica teórica (FAO 1994) y experimental de la harina de maíz nixtamalizada (HMN) (g /100g de muestra)¹

Componente	Valor experimental base húmeda	Valor en base seca	Valor teórico base húmeda ²	Valor teórico en base seca
Humedad	9.57±0.05	-	8.70	-
Proteína cruda	7.29±0.22	8.06	9.40	10.29
Grasa cruda	4.57±0.09	5.05	3.90	4.27
Fibra Cruda	0.33±0.04	5.0	1.20	1.31
Cenizas	1.25±0.22	0.36	1.40	1.53
Hidratos de Carbono ³	77.30	85.42	75.40	82.58
Energía (kJ/100 g) ⁴	379.49	414.16	375.10	410.8

HMN: Harina de Maíz Nixtamalizada

1. Valor promedio ± D.E; C.V. < 5%.

2. FAO, 1994.

3. Calculado por diferencia.

4. Calculado considerando factores de Atwater.

En la tabla 2 se muestra que la composición del maíz en base seca presentó diferencia entre algunos parámetros con respecto a los reportados en la literatura como son grasa, fibra, cenizas e hidratos de carbono, es posible que sea debido a diversos factores como son acondicionamiento de la muestra, condiciones de cosecha, suelo, fertilizantes, así como la variedad del maíz.

Tabla 3. Comparación de la composición teórica (Hernández 1996) y experimental del Frijol Negro (*Phaseolus vulgaris* g /100g de muestra)¹

Componente	Valor experimental en base húmeda	Valor en base seca	Valor teórico base húmeda ²	Valor teórico en base seca
Humedad	10.0±. 03	-	8.70	
Proteína cruda	18.45± 0.35	20.50	21.8	24.97
Grasa cruda	3.68± 0.08	4.08	2.5	2.86
Fibra	2.10± 0.05	2.33	4.0	4.58
Ceniza	2.73± 0.35	3.04	3.6	4.12
Hidratos de carbono³	63.04	70.44	55.4	63.46
Hierro	8.1 mg ± 0.12	9.0 mg	4.7 mg	5.38 mg
Calcio	138.5 mg ± 7.65	153.9 mg	183.0 mg	209.68 mg
Energía (KJ/100 g)⁴	358.8	398.66	322	3.68.84

1. Valor promedio ± D.E; C.V. < 5%.

2. Hernández, 1996.

3. Calculado por diferencia.

4. Calculado considerando factores de Atwater.

Los resultados obtenidos del análisis bromatológico en base húmeda y base seca del frijol negro Jamapa se muestran en la tabla 3, asimismo se presentan los valores obtenidos por Hernández (1996). Al comparar dichos valores con los experimentales en relación a grasa, fibra, e hidratos de carbono existe diferencia, que pudo deberse al acondicionamiento de la muestra, condiciones de cosecha, suelo, fertilizantes, así como la variedad del frijol.

Debido al mayor contenido de hidratos de carbono y lípidos los valores calculados de energía fueron mayores en la muestra experimental, que en los datos teóricos.

5.2 Pruebas biológicas Relación Eficiencia Proteína (REP) Y Relación Neta de la Proteína (RNP)

Durante el periodo del ensayo biológico Relación de la Eficiencia Proteína (REP) se observó el crecimiento de los animales. En la figura 4 se puede observar como fue el aumento de peso con respecto al tiempo. El comportamiento que

tuvieron las dietas de caseína son las esperadas, dado que su proteína es completa en cuanto a los aminoácidos presentes (aminoácidos indispensables).

El grupo que presentó mayor aumento de peso fue el alimentado con la dieta caseína + calcio; al realizar una prueba de rango múltiple se encontró una diferencia significativa con respecto a las otras dietas de caseína (ver anexo IV), se esperaba que todas las dietas de caseína tuvieran un crecimiento similar, este comportamiento pudo deberse a que el grupo de caseína + calcio consumió mayor cantidad de dieta (ver anexo IV).

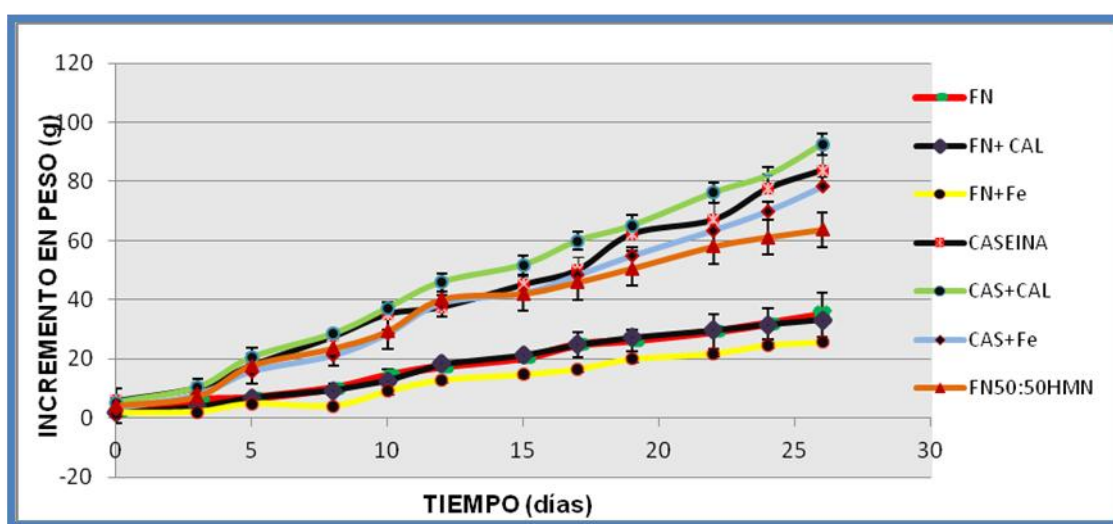


FIGURA 4. Curva de crecimiento durante el ensayo biológico

FN: dieta frijol negro.

CASEÍNA: dieta caseína

FN + Cal: dieta frijol adicionado con calcio.

Cas+ Cal: dieta caseína adicionada con calcio

FN + Fe: dieta frijol negro adicionado con hierro.

Cas+ Fe: dieta caseína adicionada con hierro

FN 50% +50% HNM (dieta de frijol negro + harina de maíz nixtamalizado)

Al comparar los pesos que presentan los animales de las dietas de frijol negro con la dietas de caseína, éstos están por debajo del control, mientras que entre las dietas de frijol negro (Frijol negro + hierro, frijol negro + calcio y frijol negro) no se presentó diferencia, mostrando que la adición de nutrientes inorgánicos no modificó la calidad de la proteína.

El grupo alimentado con la dieta de harina de maíz nixtamalizado + frijol negro obtuvo un crecimiento parecido al de las dietas de caseína (sin encontrar

diferencia significativa), lo cual se dio por la cantidad de alimento que consumió, así como la complementación proteínica.

Los resultados de Relación de Eficiencia Proteínica (REP), RNP y digestibilidad aparente mostrados en la tabla 4, indican que existió diferencia significativa entre la calidad de la proteína del frijol negro, con respecto a la caseína. En relación a la REP, entre las dietas con la misma fuente de proteína no existió diferencia significativa, que era un resultado esperado por ser la misma dieta con diferente nutrimento inorgánico agregado (hierro y calcio).

Tabla 4. Valores experimentales de Relación de la Eficiencia Proteínica (REP); Relación Neta de la Proteína (RNP) y Digestibilidad aparente¹ (a lo largo de 28 días).

DIETA ²	PROTEINA g/100 g muestra	REP	RNP	% Da
Cas n=4	9.9 ±0.25	2.86 ±0.31 ^a	4.05 ±0.41 ^b	92.6 ±8.1 ^a
Cas + Cal n=6	10.1 ±0.11	2.94 ±0.21 ^a	4.57 ±0.30 ^a	97.6 ±6.2 ^a
Cas + Fe n=6	9.9 ±1.6	2.86 ±0.31 ^a	4.17 ±0.64 ^{a,b}	95.0 ±1.0 ^a
FN n=6	11.2 ±1.63	1.30 ±0.18 ^c	2.30 ±0.25 ^d	60.6 ±6.2 ^c
FN + Cal n=6	11.4 ±0.44	1.26 ±0.14 ^c	2.20 ±0.22 ^{e,d}	61.6 ±4.1 ^c
FN + Fe n=4	9.8 ±0.33	1.23 ±0.19 ^c	1.81 ±0.08 ^e	50.6 ±1.1 ^d
FN + HNM n=6	10.8 ±0.10	2.06 ±0.21 ^b	3.30 ±0.28 ^c	72.4 ±0.8 ^b

1. Valor promedio ± D.E; C.V. Letras distintas dentro del mismo parámetro indican ≠ significancia ($p < 0.05$).

2. Número de muestras con las que se trabajó.

Ca: caseína, Cas+ Cal: caseína + calcio, Cas+ Fe: caseína + hierro, FN: dieta de frijol negro, FN+ Cal: dieta frijol negro + calcio, FN+ Fe: dieta frijol negro + hierro, FN+ HNM dieta de frijol negro: harina de maíz nixtamalizado (50:50)

REP: Relación de la Eficiencia Proteínica, RNP: Relación Neta de la Proteína, Da: Digestibilidad aparente, REP_a: Relación de la Eficiencia Proteínica ajustada, RNP_a: Relación Neta de la Proteína ajustada.

La razón por la cual la REP del frijol negro es menor a la de la caseína es que esta leguminosa es deficiente en metionina (Serrano, J. 2004).

El grupo de animales alimentado con mezcla de frijol negro + harina de maíz nixtamalizado obtuvo un valor de REP de 2.06, mostrando una diferencia significativa con respecto a los grupos alimentados con las dietas con frijol como única fuente de proteína. Como era de esperar la dieta de la mezcla frijol negro + harina de maíz nixtamalizado (proteína 50:50), mostró una complementación de aminoácidos, la complementación se da por la deficiencia de lisina y triptófano en el maíz los cuales son aportados por el frijol que a su vez es deficiente de metionina, la cual es proporcionada por el maíz (Soriano 2006).

La Relación de Eficiencia Proteínica es el método más usado para evaluar la calidad de la proteína, pero tiene el inconveniente de no tomar en cuenta la proteína que se destina al mantenimiento del animal, por lo que se calculó la RNP.

El valor de RNP de los grupos alimentados con las dietas experimentales fue bajo en comparación con la dieta de referencia. El grupo alimentado con la dieta de frijol negro + hierro presentó el valor más bajo y mostró diferencia significativa con el grupo alimentado con dieta de frijol negro. Por otro lado, entre los grupos de la dieta del frijol negro y la dieta de frijol negro + calcio no existió diferencia. El comportamiento que se esperaba era que no existiera diferencia entre las dietas del mismo grupo, ya que la única diferencia entre ellos era el nutrimento inorgánico adicionado; El resultado del grupo alimentado con la dieta de frijol negro + hierro pudo haberse suscitado por la baja digestibilidad que presentó en comparación con las dietas de su mismo grupo.

Como era de esperar, la mezcla frijol negro + harina de maíz nixtamalizado obtuvo un valor mayor de RNP con respecto a las dietas de frijol negro, aunque por debajo de las dietas de caseína.

Para completar la evaluación de calidad nutritiva a través de métodos biológicos de la proteína del frijol negro, se determinó la digestibilidad aparente, midiendo la cantidad de nitrógeno ingerido y la cantidad de nitrógeno eliminado en heces.

De acuerdo a la literatura, la caseína tiene una digestibilidad aparente, de 86.0 - 99.0 % (Soriano J; 2006) y experimentalmente se obtuvieron valores entre 92.0 - 97.0 %, estos valores indican que las dietas de caseína poseen una buena digestibilidad.

La digestibilidad del frijol negro reportado en la literatura es en promedio de 68.8% con un rango de 56.7 - 81.6 % (Serrano J; 2004). En las dietas estudiadas el rango fue de 50-60 %, el cual fue similar al teórico, la digestibilidad presenta un valor bajo y es el esperado por ser un alimento vegetal y contener factores que la limiten (fibra, factores tóxicos y antinutrimientales).

La dieta de frijol negro + hierro mostró el valor mas bajo de digestibilidad, con una diferencia significativa en comparación a las dietas de frijol negro y frijol negro + calcio. Las diferencias encontradas pudieron deberse a que los productos resultantes de la digestión proteínica, pueden unirse a los iones metálicos (hierro) generando su precipitación cuando avanzan hacia el yeyuno y el íleon donde el pH va haciéndose menos ácido y la solubilidad de éstos disminuye (proteína y hierro)(Asmead 1989), reduciendo la digestibilidad.

La dieta de frijol negro + harina de maíz nixtamalizada, presenta como es lo esperado una mayor digestibilidad (72.4 %) en el organismo, en comparación con las otras dietas de frijol negro; Este valor es el resultado de la mezcla, dado que el maíz tiene una digestibilidad alta (90.9-85.9 % Gil H; 2010), mientras que el frijol tiene una digestibilidad mediana (experimental 60.6 y reportada en la literatura 56.7 - 81.6 % Serrano J; 2004) por lo que al realizar la mezcla harina de maíz nixtamalizado: frijol negro (50:50) se obtiene una mayor digestibilidad en relación al frijol negro sólo.

Al observar el gráfico de barras (figura 5, tabla 5) se muestra la comparación del REPa de las dietas de referencia y las dietas experimentales, observándose una diferencia significativa entre ellas.

Tabla 5. Valores de Relación de Eficiencia Proteínica ajustada (REPa) y Relación Neta de la proteína ajustada (RNPa).

DIETA ²	REPa	RNPa
Cas an=4	2.50 ±0.20 ^a	4.10 ±0.74 ^b
Cas + Cal n=6	2.71 ±0.19 ^a	4.61 ±0.19 ^a
Cas + Fe n=6	2.63±0.28 ^a	4.14 ±0.63 ^{a,b}
FN n=6	1.19 ±0.17 ^c	2.28 ±0.25 ^e
FN + Cal n=6	1.48 ±0.66 ^c	2.47 ±0.65 ^{d,e}
FN + Fe n=4	1.17 ±0.26 ^c	2.27 ±0.28 ^d
FN + HNM n=6	1.89 ±0.19 ^b	4.22 ±0.64 ^c

Ajustando los valores de REP, el grupo alimentado con la dieta de frijol negro + harina de maíz nixtamalizada tuvo una diferencia significativa con la dieta de referencia, demostrando que hubo complementación proteínica.

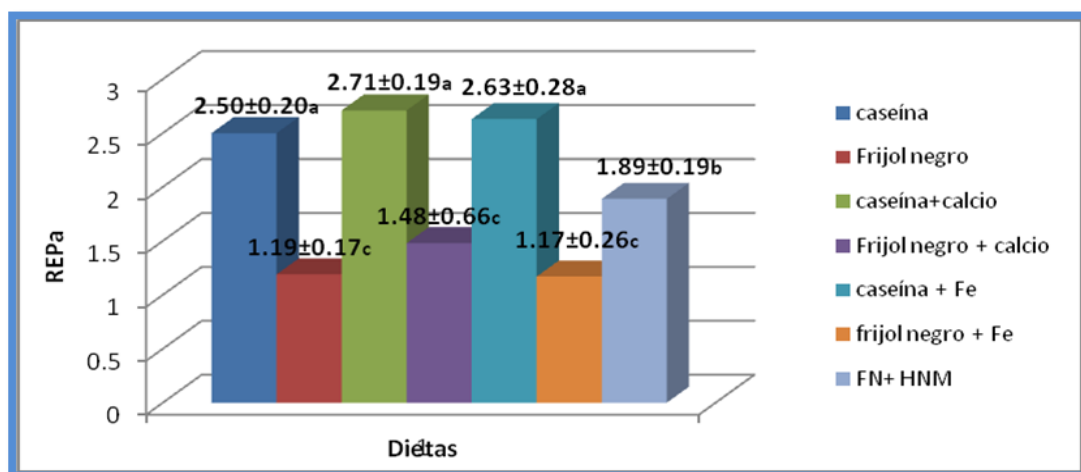


Figura 5. Comparación de la Relación Eficiencia Proteína ajustada (REPa) de las dietas estudiadas

1. Letras distintas dentro del mismo parámetro indican diferencia significancia ($p < 0.05$).

En la figura 6, tabla 5, se presenta la comparación del RNPa de caseína con la del frijol negro, observándose un comportamiento similar al encontrado para la REP, las dietas de frijol negro mostraron diferencia significativa entre sí, mientras

que la dieta que sobresale es la de frijol negro + harina de maíz nixtamalizado, mostrando una proteína de buena calidad.

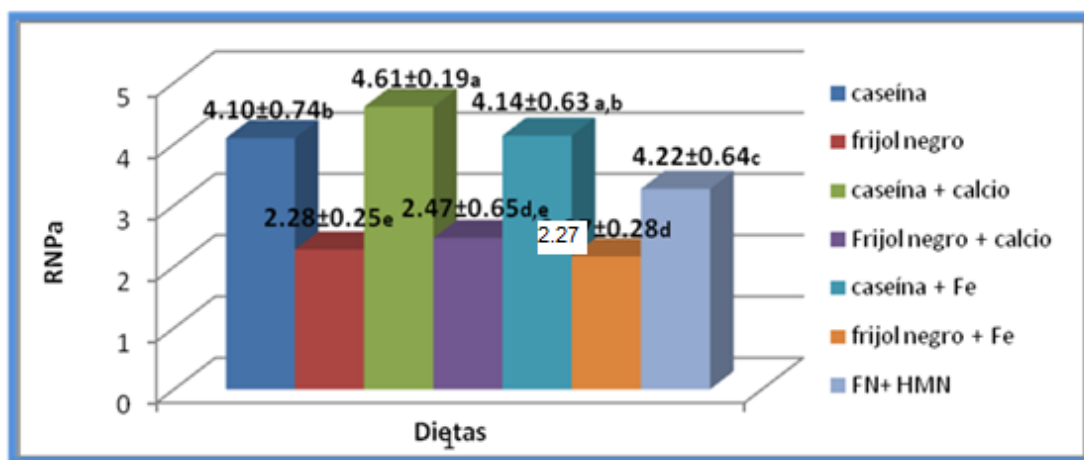


Figura 6. Comparación de la Relación Neta de la Proteína ajustada (RNPa) de las dietas estudiadas.

1. Letras distintas dentro del mismo parámetro indican diferencia significancia ($p < 0.05$).

Con base en los resultados obtenidos de REPa, RNPa y Da, se puede decir que la proteína del frijol negro tiene una menor calidad proteínica en comparación con la dieta de caseína, lo cual es debido a su deficiencia metionina (Soriano J; 2006). Para la dieta de frijol negro + harina de maíz nixtamalizada, la calidad de proteína es buena, (en comparación con la dieta de referencia), estos valores son el resultado de la complementación que se da entre los aminoácidos de proteína la harina de maíz nixtamalizado y el frijol negro.

Los valores obtenidos del ensayo biológico eran los esperados dado que la proteína utilizada es de origen vegetal, y como se dijo anteriormente es limitante en algunos aminoácidos indispensables, como la metionina, contiene mayor cantidad de fibra que los alimentos de origen animal, que puede provocar una menor absorción de los nutrimentos. Otros factores que tal vez influyeron son que la fracción proteínica puede estar protegida de la acción enzimática por materiales estructurales como son lignina o la presencia de factores antinutricionales como los inhibidores de tripsina que disminuyen la biodisponibilidad de los aminoácidos

(Yuliem M; 2006).

5.3 Biodisponibilidad de energía

Estudios indican que a medida que aumenta la ingestión energética, aumenta la síntesis de proteínas y disminuye la oxidación de aminoácidos, siempre y cuando éstos no se encuentren en exceso (Gandarillas Henríquez; 2002). En los ensayos biológicos la proteína se encuentra por debajo de los requerimientos de la rata por lo que se puede decir que los aminoácidos de la dieta solo serán usados para la síntesis de proteínas corporales.

Con los valores obtenidos de la densidad energética (ver tabla 6) se calculó la biodisponibilidad de los nutrimentos energéticos y balance energético mostrando que solo una pequeña parte de energía se excreta y la demás es utilizada en el organismo (aproximadamente 90%) por lo que se aprovecha una proporción importante de la energía contenida en la dieta.

La energía digerible presente en las dietas de frijol negro, frijol negro + hierro y frijol negro + calcio no mostró diferencia significativa, mientras que por encima de éstas estuvieron las dieta de caseína y la mezcla 50:50 frijol negro + harina de maíz, que al igual que las otras dietas mostraron un mismo comportamiento sin diferencia significativa.

En todos los casos se ingirió mayor cantidad de energía que la gastada, obteniendo aproximadamente el 90 % de energía digerible, lo cual se demandaba dado que los animales estaban en crecimiento y necesitaban mayor cantidad de energía para sus funciones.

Tabla 6. Biodisponibilidad de energía¹

Dieta²	Energía Ingerida (kJ/g dieta)	Energía Fecal (kJ/g heces)	Balance de energía (kJ/g)	% Energía biodisponible
Cas n=6	1602.17 ±224.22	109.67 ±13.69	1492.56 ±204.98	93.23±0.65 ^a
Cas + Cal n=6	1506.55 ±108.56	99.60 ±13.99	1406.94 ±96.59	93.40±0.57 ^a
Cas + Fe n=6	1249.26 ±145.90	87.65 ±1.51	1161.10 ±146.66	92.92 ±0.97 ^a
FN n=5	1367.08 ±141.16	158.68 ±17.94	1191.33 ±132.40	87.92±3.02 ^b
FN + Cal n=5	1292.49 ±93.77	150.67 ±18.83	1141.84 ±96.40	88.29 ±1.51 ^b
FN + Fe n=5	1199.19 ±36.56	127.72 ±11.55	1060.22 ±41.08	89.97 ±1.25 ^b
FN + HMN n=5	1921.88 ± 200.74	150.72 ±16.11	1654.64 ±46.64	92.45 ±1.70 ^a

1. Valor promedio ± D.E; C.V.< 5 %. Letras distintas dentro del mismo parámetro indican ≠ significancia ($p < 0.05$).

2. Número de muestras con las que se trabajó.

Balance de energía= Energía ingerida – Energía fecal

%Energía Digerible= [(Energía Ingerida-Energía Fecal) / Energía Ingerida] x 100

Cas: caseína, Cas+ Cal: caseína + calcio, Cas+ Fe; caseína + hierro, FN: dieta de frijol negro, FN+ Cal: dieta frijol negro + calcio, FN+ Fe: dieta frijol negro + hierro, FN+ HMN dieta de frijol negro: harina de maíz nixtamalizado (50:50)

Balance de energía= Energía ingerida – Energía fecal

En todos los casos se ingirió mayor cantidad de energía que la gastada, obteniendo aproximadamente el 90 % de energía digerible, lo cual se demandaba dado que los animales estaban en crecimiento y necesitaban mayor cantidad de energía para sus funciones.

5.4 Biodisponibilidad de calcio

Para las dietas suplementadas con calcio se empleó citrato de calcio (ver anexo III), por tener una mayor solubilidad y aportar mayor cantidad de calcio (0.9 g/L y 21% respectivamente) en comparación con las diferentes sales de calcio que se

utilizan en la industria alimentaria (carbonato de calcio 0.14 g/L, lactato de calcio aporta 13% y gluconato de calcio 9%) (Aguilera-Barreiro; 2005). El citrato de calcio no requiere de mayor secreción de ácido estomacal para su disolución (Harvey J; 1990).

Para calcular la biodisponibilidad se determinó la cantidad de calcio en heces ya que el calcio no absorbido se elimina por medio de esta vía.

Tabla 7. Biodisponibilidad de calcio¹

Dieta²	mg Calcio³ Ingerido	mg Calcio³ Excretado	% Biodisponibilidad
Cas_{n=6}	403.65±60.85	25.78±2.50	93.62±0.85 ^a
Cas + Cal_{n=6}	291.74±21.02	78.42±10.93	74.04±5.04 ^d
Cas + Fe_{n=6}	170.76±16.55	37.33±0.48	77.95±2.36 ^{cd}
FN_{n=6}	138.35±15.0	25.13±9.89	77.92±5.93 ^{cd}
FN + Cal_{n=6}	138.20±6.25	58.12±7.09	60.24±5.25 ^e
FN + Fe_{n=6}	77.06±1.83	13.80±1.57	82.52±2.58 ^c
FN + HMN_{n=6}	104.59±4.34	9.90±0.53	87.23±4.29 ^b

¹ Valor promedio ± D.E; C.V.< 5 %. Letras distintas dentro del mismo parámetro indican ≠ significancia ($p < 0.05$).

² Número de muestras con las que se trabajó

³ %. mg de calcio presente en gramos de alimento ingerido y heces recolectadas de 7 días.

Las unidades son mg de calcio presente en gramos de dieta o heces de 7 días.

Cas: caseína, Cas+ Cal: caseína + calcio, Cas+ Fe; caseína + hierro, FN: dieta de frijol negro, FN+ Cas: dieta frijol negro + calcio, FN+ Fe: dieta frijol negro + hierro, FN+ HMN dieta de frijol negro: harina de maíz nixtamalizado (50:50)

El calcio de la dieta de caseína obtuvo una alta biodisponibilidad, mientras que para las dietas de caseína + calcio, caseína + Fe resultado ser menor, en el caso de la dieta adicionada con hierro es probable que esta observación sea el resultado de que el grupo alimentado con la dieta de caseína + hierro consumió menor cantidad de dieta.

En el caso de los grupos alimentados con las dietas adicionadas con Ca es importante mencionar que el calcio agregado a las dietas de frijol negro + calcio y caseína + calcio fue una cantidad mayor a la requerida por día para los animales, por lo que los grupos alimentados con dichas dietas tuvieron un valor alto de

calcio excretado en comparación con las demás dietas, ya que el calcio no absorbido o no requerido por el organismo fue eliminado en heces (Aurbach 1985).

El grupo con la dieta de frijol negro + calcio ingirió menor cantidad de calcio que el alimento con la dieta de caseína +calcio (138 mg y 291.74 mg respectivamente), ingiriendo la misma cantidad que la dieta de frijol negro.

En cuanto a la biodisponibilidad de calcio, la dieta de frijol negro +calcio resultó ser menor en comparación con las dietas de su mismo grupo (frijol negro 77.92 %y frijol negro + Fe 82.52%), este resultado se dio debido a que si la ingesta de un nutrimento aumenta por encima del requerimiento (en este caso el calcio), la absorción disminuye, y viceversa, si la ingesta del nutrimento (calcio) disminuye la absorción aumenta (Campbell,1997).

La biodisponibilidad de calcio en la dieta de frijol negro + harina de maíz nixtamalizado, tuvo un comportamiento semejante a la biodisponibilidad de calcio en las demás dietas de caseína, teniendo una alta biodisponibilidad en comparación con la dieta de frijol negro + calcio.

5.5 Biodisponibilidad de Hierro

En la tabla 8 se observa la cantidad de hierro que ingirió cada uno de los grupos. Los grupos alimentados con frijol tuvieron una mayor ingesta de hierro que los alimentados con las dietas de referencia porque además del hierro presente en la mezcla de minerales, el frijol negro aporta una cantidad importante de hierro (≈ 4.7 mg /100 g). En el caso de las dietas de caseína y caseína + calcio la fuente de proteína no contenía hierro; la cantidad determinada en estas dietas fue la que se hallaba presente en la mezcla de minerales, por lo que la concentración de hierro que se encontró fue menor, y por lo tanto el consumo de hierro fue menor en comparación con la dietas de frijol negro y caseína + hierro.

Las dietas de frijol negro + hierro y caseína + hierro, se enriquecieron con fumarato ferroso (ver anexo III) que es una de las sales más utilizadas por su bajo costo y alta absorción (Blesa; 2008).

Tabla 8. Biodisponibilidad de hierro¹

Dieta ²	mg Fe ³ ingerido	mg Fe ³ Fecal	% Biodisponibilidad
Cas n=6	6.42 ±0.97	1.35 ±0.15	80.5 ±4.92 ^b
Cas+Ca n=6 ^l	3.98 ±0.29	1.94 ±0.32	51.3 ±5.33 ^c
Cas+Fe n=6	24.09 ±2.34	20.63±1.66	21.85 ±36.59 ^d
FN n=6	12.47 ±1.43	1.95 ±0.25	82.4 ±2.81 ^b
FN+Ca n=6 ^l	17.91 ±0.81	2.32 ±0.24	86.6 ±1.65 ^a
FN+ Fe n=6	19.34 ±0.46	2.52 ±0.17	87.4 ±1.46 ^a
FN+HMN n=6	22.0 ±0.8	2.37 ±0.35	90.0 ±3.13 ^a

1 Valor promedio ± D.E; C.V.< 5 %. Letras distintas dentro del mismo parámetro indican ≠ significancia (p< 0.05).

2 Valor promedio ± D.E; C.V.< 5 %. Letras distintas dentro del mismo parámetro indican ≠ significancia (p< 0.05).

3 mg de calcio presente en gramos de alimento ingerido y heces recolectadas de 7 días.

Cas: caseína, Cas+ Cal: caseína + calcio, Cas+ Fe; caseína + hierro, FN: dieta de frijol negro, FN+ Cal: dieta frijol negro + calcio, FN+ Fe: dieta frijol negro + hierro, FN+ HMN dieta de frijol negro: harina de maíz nixtamalizado (50:50)

Las dietas de caseína tuvieron un comportamiento esperado, observándose mayor biodisponibilidad en la dieta de caseína (80.5 %), seguida por caseína + calcio (51.3%) y al último caseína + hierro. En el caso del grupo alimentado con la dieta caseína + calcio este comportamiento se pudo deber a que la interacción del calcio y el hierro es de particular importancia, estas sales compiten por el transportador DMT1 el cual es transportador de metales divalentes. De esta forma, el calcio pudo haber interferido en la absorción (Latunde-Dada G; 2002).

El hierro presente en el frijol negro (FN), se encuentra en forma no hémica (Fe no-Hem) por lo que su biodisponibilidad es baja (Martinez C; 1999). Martínez y colaboradores (1998) reportaron una biodisponibilidad *in vitro* de 4.1 - 9.0 % (Martínez et al. 1998), mientras que en un estudio con ratas anémicas, Sgarbieri y colaboradores (1979); obtuvieron una biodisponibilidad de 4.05 % (Sgarbieri et. al. 1979). Sin embargo, cabe aclarar que en el estudio para la biodisponibilidad del hierro se consideró el presente en la mezcla de minerales y el procedente del frijol negro.

La biodisponibilidad del hierro en la dieta de frijol negro + hierro fue mayor en comparación con la dieta de caseína + hierro; Este resultado podría ser explicado por el hecho de que los animales alimentados con la dieta frijol negro + hierro consumieron una menor cantidad de alimento en comparación con el grupo de caseína + hierro, lo que condujo a un menor consumo de hierro, por lo que al consumir menor cantidad de hierro, los animales aumentaron la biodisponibilidad del hierro.

El Fe de las dietas elaboradas con frijol fue mayor al de las dietas de referencia, lo cual puede deberse a que los grupos alimentados con las dietas de frijol aumentan la biodisponibilidad porque el hierro presente en el frijol puede estar formando complejos con los fitatos presentes en éste, y al momento que se le adiciona hierro (mezcla de sales) el exceso ya no forma complejos, aumentando la biodisponibilidad.

La dieta de frijol negro + harina de maíz nixtamalizado fue la dieta que obtuvo una mayor biodisponibilidad (90 %) en comparación con todas las dietas, esto por no tener un competidor por el mismo transportador (Ca) o tener una excesiva concentración de hierro presente en la dieta.

Los resultados de la biodisponibilidad de hierro y calcio no fueron los esperados, dado que la cantidad de nutrientes inorgánicos agregada a las dietas fue mayor a la cantidad requerida por los animales y no permitió observar el comportamiento de la proteína en presencia de estos dos nutrientes inorgánicos.

VI. CONCLUSIONES

- Se determinó la calidad de la proteína de la harina del frijol negro por medio de ensayos biológicos (relación de eficiencia proteínica, relación neta de proteína y digestibilidad aparente), corroborando que la proteína es de baja eficiencia de conversión, en comparación con la proteína de referencia (caseína).
- Los valores REP y RNP ajustados mostraron una mediana calidad de la proteína del frijol negro, mientras que para la mezcla 50:50 de frijol negro y harina de maíz nixtamalizada, se observó un aumento en la calidad de la proteína, lo cual corrobora la complementación proteínica que se obtiene al mezclar estos grupos de alimentos.
- La energía digerible determinada fue de 87 - 93 %, la cual fue utilizada por los animales de experimentación para la realización de sus funciones biológicas.
- La adición de sales (hierro y calcio) a las dietas no mostró resultados concluyentes, dado que se agregó mayor cantidad de éstas en cuanto a la necesidad de los animales de experimentación, provocando una disminución en su absorción.
- Los resultados que se obtuvieron para la determinación de la calidad proteínica, pueden ser utilizados para conformar la base de datos de fácil acceso. Estos parámetros son relación de eficiencia proteínica, relación neta de proteína y digestibilidad aparente.

Perspectivas

De acuerdo a los resultados obtenidos en el presente trabajo se recomienda realizar estudios para conocer el efecto del hierro y el calcio en la digestibilidad de las proteínas.

Para realizar la adecuada medición de biodisponibilidad de calcio, y de hierro, se debe considerar:

- El requerimiento de los animales experimentales y emplear una mezcla de minerales libre de estos dos nutrimentos inorgánicos (hierro y calcio), para calcular únicamente la biodisponibilidad de los nutrimentos provenientes de las sales a evaluar.

VII. BIBLIOGRAFÍA

1. Abb, El-Hardy, Habiba R. Effect of soaking and extrusion conditions on antinutrients and protein digestibility of legume seeds. *Lebensm-Wiss U-Technol.* 2003. 36:285-293.
2. Aguilera-Barreiro M. Efecto del calcio dietético contra citrato de calcio sobre marcadores bioquímicos convencionales, en mujeres perimenopáusicas. *Salud Púb de Méx;* 2005. 47:4. 259-267.
3. Ait-oukhatar, N, Bouhallab, S, Bureau F, Arhan, P, Maubois, J, Drosdowsky et. al Bioavailability of caseinophosphopeptide bound iron in the young rat, *J. Nutr. Biochem.* 1997. 8: 190-194
4. ASERCA (2007). Estudio de maíz blanco y frijol seco. Borrador para discusión, Apoyos y Servicios a la Comercialización Agropecuaria, México.
<http://www.aserca.gob.mx/>
Departamento responsable: Dirección general de administración y finanzas
Fecha de consulta septiembre 2011.
5. Asmead, H, Graff, J, Ashmead, H. Intestinal absorption of metal ions and quelates. Thomas Springfield, citado por Ashmead, H, en *Nutrient availability: chemical and biological aspects.* Royal society of chemistry. Cambridge. 122-124. 1989.
6. Aurbach, G. D, Marx SJ. and Spiegel AM. Parathyroid hormone, calcitonin and the calciferols in Wilson y Foster, *Williams Textbook of Endocrinology.* WB Saunders. Baltimore. pp 1136.-1140.1985.
7. BaduÍ, D. Química de los alimentos. 2^{da} edición, Ed. Alhambra Universidad. México, D.F. pp 15-129. 1990
8. Blesa, B. Anemia ferropenia. *Pediatr Integral* 2008; XII (5): 457-454.
9. Bourdon, I, Olson B, Backus, Schneeman O. Beans, as a source of dietary fiber, increase cholecystokinin and apolipoprotein B48 Response to test meals in men. *J Nutr.* 2001.131:1485-1490.
10. Bowman, B, Rusell A. Present Knowledge in Nutrition. ILSI Press, Washington DC. pp 255-278. 2006.
11. Bressani, R. Grain quality of common beans. *Food Rev Int* 1993. 9: 217-297.

12. Brody, T. Nutritional Biochemistry. 2ª ed. Academic Press. San Diego. pp 1003.1999.
13. Campbell, W. "Urología". Panamericana. Buenos Aires. pp. 1371-1372. 1997.
14. Casanueva, E. Diabetes mellitus y nutrición en Nutriología Médica. Panamericana. México D.F. pp 484-496.2001.
15. Caruci, N. Nutrición y salud. Caribe. San Diego. pp. 20-21. 2005.
16. Castellanos, Z. Guzmán-Maldonado. Hábitos preferenciales de los consumidores de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) en México. Arch Latinoam de Nutr. 1997. 47(2):163-167.
17. Cunniff, P. Official Methods of Analysis of AOAC International 16th Edition Published by AOAC International Suite 400, 2200 Wilson Boulevard Arlington, Virginia (22201) 2005. Sección 22.01, 32.1.05-32.1.22, 45.3.06,45.3.04.
18. Dallman, PR. Iron. Ziegler EE, Filer LJ. Present in Knowledge in nutrition. ILSI Press. Washington D.C. pp 41-45.1990.
19. FAO 1994.
<http://www.fao.org/docrep/field/003/AB482S/AB482S00.htm>
Departamento responsable Jefe de la Subdivisión de Políticas y Apoyo en materia de Publicaciones Oficina de Intercambio de Conocimientos, Investigación y Extensión.
Fecha de consulta: septiembre 2011.
20. Fennema, O. Química de los Alimentos. Acribia.. Zaragoza. pp. 471- 480. 2000.
21. Flores, J. Farmacología Humana. Masson S.A. Barcelona. pp. 991. 2005.
22. Gandarillas Henríquez M. La nutrición humana y sus requerimientos de proteína animal: el caso de la lisina, tesis de Magister, Santiago. pp 33-46. 2002.
23. Gandarillas, M, Bas, F. Proteína y lisina de origen animal en la dieta del chileno. Cien. Inv. Agr. 2004. 31(3): 145-154.
24. Gil, A. Tratado de nutrición composición y calidad nutritiva de los alimentos. Panamericana. Madrid. Pp 105. 2010.
25. Goñi, I, Martin-Carron, N. Fermentación colónica de fibra dietética y almidón resistente. En: Lajolo F. Saura-Calixto F. Fibra dietética en Iberoamérica: Obtención, caracterización, efecto fisiológico y aplicación en alimentos. Varela, Sao Paulo. pp 311-338. 2001.
26. Grantham-McGregor, S, Ani, C. A review of studies on the effect of iron deficiency on cognitive development in children. J. Nutr. 2001. 131: S649-S68.

27. Guzmán-Maldonado, S. and Acosta-Gallegos. Calidad alimentaria y potencial nutracéutico del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). Agr Téc México. 2002. 28:159-173.
28. Harvey, A. Superior calcium absorption from calcium citrate than calcium carbonate using external forearm counting. J Am Coll Nutr, 1990. 9: 583-587.
29. Hemingway, W. and Lacks, E. Plant Polyphenols. Plenum. New York. 1992 pp 119, 245, 421, 693, 696.
30. Hernández-Triana, M. and Porrata-Maury. Calcio, osteoporosis, hipertensión arterial y cáncer colorrectal. Rev. Cubana Aliment. Nutr. 1999. 13 1:33-45.
31. Hernández, L. Tablas de valor Nutritivo de los alimentos. Pax. México D.F. pp. 35. 1995.
32. Horton, S, and Ross, J. The economics of iron deficiency. Food Pol. 2003. 28: 51-75.
33. Khan, K, Wojdyla, D, Gulmezoglu, I, Van, PF. WHO analysis of causes of maternal death: a systematic review. Lancet. 2006. 367:9516: 1066-74.
34. Kirsten, R. Heintz, B. Nelson, K. Hesse, K. Schneider, E; Oremek, G, Nemeth, N. et al. Polyenylphosphatidylcholine improves the lipoprotein profile in diabetic patients. Int J Clínica Pharm Ther 1993. 32:53-56.
35. Langini, S, Vasallo, L, Partela, L. Interrelaciones entre balance nitrogenado contenido hepático de hierro y peso corporal durante la recuperación nutricional en ratas. Rev med. 199. 455.
36. Lantude-Dada, G, Van der W, Vulpe C. Anderson, GJ, Simpson, RJ. Molecular and functional roles of duodenal cytochrome b (dcb) in iron metabolism. Blood Cell Molec Dis. 2002. 29:356-60.
37. Leterme, P. and Muñoz, C. Factors influencing pulse consumption in Latin American. Brit J. Nutr. 2002. 88:S. 251-254.
38. Linder, E. Toxicología de alimentos. Acirbia. Madrid. 1995. pp 3-4.
39. Martínez, C. and Gaspar, R. Biodisponibilidad del hierro de los alimentos. Arch Latin de Nutr. 1998. 49 2:106-112.
40. Matthews, R. Legumes and Chemistry. Tech and Nutr. 1989. 389-391.
41. Melvin, W. Nutrición para la salud, la condición física y del deporte. Paidotribo. Zaragoza. pp 181-182. 2002.
42. Meyer, O, and Tunland, B. Non-digestible oligosaccharides and polysaccharides: their physiological effects and health implications. Adv Diet Fibre Tec. 2001. 39. 455-70.

43. Mora, I. Nutrición animal. Universidad Estatal a Distancia. San José. pp. 20-24. 2007.
44. Olvera, G. Frijol. Claridades Agropecuarias. 1997. 44: 3-44.
45. Ortega, R. and Ochoa, R; El frijol mexicano y el nuevo siglo. Claridades Agropecuarias. 2003. 124:6-15.
46. Osorio-Díaz, P, and Bello-Pérez. *In vitro* digestibility and resistant starch content of some industrialized commercial beans (*Phaseolus vulgaris* L.). Food Chem. 2002. 78: 333-337.
47. Palacios, C. Lo nuevo en los requerimientos de calcio, propuesta para Venezuela. An. Venez Nutr. 2007 20:2, 99-107.
48. Quintana, C, Gómez, B, Díaz, N. and Camarena, M. Evaluación de la calidad de la proteína de cuatro variedades mejoradas de frijol. Rev Cub Aliment. Nutr. 2000. 14: 22-27.
49. Ramírez, G. Cambios en la composición química y contenido de tóxicos en el fruto del colorín (*Erythrina americana*) durante su maduración. Tesis de licenciatura. UNAM, México D.F. 1996. pp. 17-21.
50. Ríos-Ugalde, C, y Reynoso, R. Efecto del consumo de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) sobre el cáncer de colon en ratas Sprague-Dawley. Agr Téc en Méx. 2007. 33:43-52.
51. Rosales, R, and Hernández, M. Genetic Relation ships and Diversity Revealed by AFLP Markers in Mexican Common Bean Bred Cultivars, *Crop Sci.* 2005. 45:1951-1957.
52. SAGARPA 2009.
http://www.sagarpa.gob.mx/agronegocios/Documents/Estudios_promercado/GRANOS.pdf
Fecha de revisión diciembre 2011.
53. Salgado-Martinez, H. and Casanueva Esther, La deficiencia de hierro y la anemia en niños mexicanos. Acciones para prevenirlas y corregirlas. Bol. Med. Hosp. Infant. Mex. 2008. 65:86-99.
54. Sanhueza, J, Acido linoleico conjugado: un ácido graso con isomeria trans potencialmente beneficioso. Rev Chil Nutr. 2002. 29:2. 98-105.
55. Sandoval, W, and Carmona A. Comparative study of condensed and hydrolyzable tannin interaction with isolated protein and enzymes. In: Recent advances of research in antinutritional factors in legume seed and rapeseed, Jansman, A, Hill, G, Huisman J, Vander B. Wageningen. The Netherlands. pp 39-42.1998.

56. Saura-Calixto, F, Garcia-Alonso, A, Goñi, L. *In vitro* determination of the indigestible fraction in food. An alternative to dietary fiber analysis. *J Agric Food Chem.* 1991. 39, pp 455-470.
57. Schaafsma, G. The Protein Digestibility-Corrected Amino Acid Score (PDCAAS). A Concept for Describing Protein Quality in Foods and Food Ingredients: A Critical Review. *JAOAC Int.* 2005. 88:988-994.
58. Serrano, J, and Goñi, L, Papel del frijol negro *Phaseolus vulgaris* en el estado nutricional de la población Guatemalteca. *Arch. Latin. Nutr.* 2004. 54: 36-44.
59. Siavoshian, S, Segain, J, Komprobst, M, Bonnet, C, Cherbut, C, Galmiche, J; et al. H. Butyrate and trichostatin A effects on the proliferation/differentiation of human intestinal epithelia cells: induction of cyclin D3 and p21 expression. *Gut* .2000. 46:507-514.
60. Sgarbieri, V, and Antunes, P. Nutritional evaluation of four varieties of dry beans (*Phaseolus vulgaris*, L.). *Journal of Food Science.* 1979. 44: 1306–1308.
61. Soriano del Castillo, M. Nutrición Básica humana, Publicaciones Universidad de Valencia. Valencia. 2006. pp 23-36 y 107-111.
62. Sousa, H. Estudio comparativo de la composición química de frijoles (*Phaseolus vulgaris*) silvestres y cultivados. Tesis de licenciatura. UNAM. México D.F. 1993. pp 12-13 y 71.
63. Suárez, A. Evaluación de la calidad de las proteínas en los alimentos calculando el score de aminoácidos corregidos por digestibilidad. *Nutr Hosp.* Buenos Aires 2006. 47-51.
64. Tobar, J. Bioavailability of Starch in processed legumes. Importance of physical inaccessibility and retrogradation. Tesis doctoral, Universidad de Lund. Lund. 1992.
65. Torun, B, Menchú, M. Recomendaciones dietéticas diarias del INCAP. INCAP ME/057. Cd. de Guatemala. pp 137. 1996.
66. Trugo, L, and Von Baer D. "Analytical methods for the analysis of antinutritional factors in legumeseed. In: recent advances of research in antinutritional factors in legumeseed and rapeseed. Jansman, A, Hill, G, Huisman J, Vander B. Wageningen. EAAP. The Netherlands. 1998. pp 11-28.
67. Valle, P. Toxicología de alimentos. Centro panamericano de ecología humana y salud/ OPS/OMS. México. pp 1-18. 1986.

68. Venegas Sánchez O. Elaboración de una base de datos de consulta referente a la calidad nutritiva protéica de diferentes alimentos de origen animal y vegetal. Tesis de Licenciatura. UNAM. Mexico. D.F. 2011. pp. 50-52.
69. Yuliem, M. Indicadores de calidad del grano del frijol (*Phaseolus vulgaris L.*). Cult trop 2006. 27:3. 52-55.

VII. ANEXOS

Anexo I. Curvas patrón

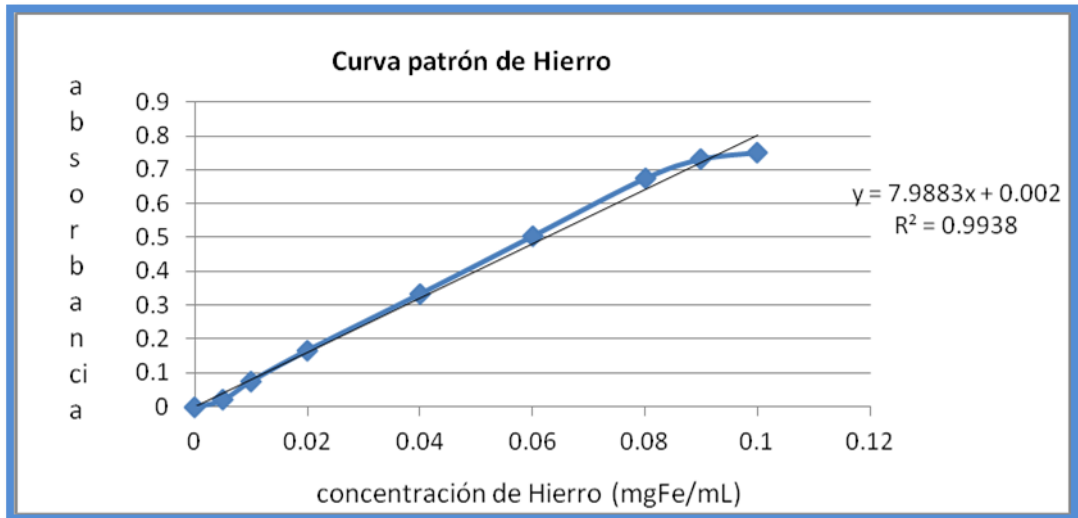


Figura 7 Curva estándar de hierro

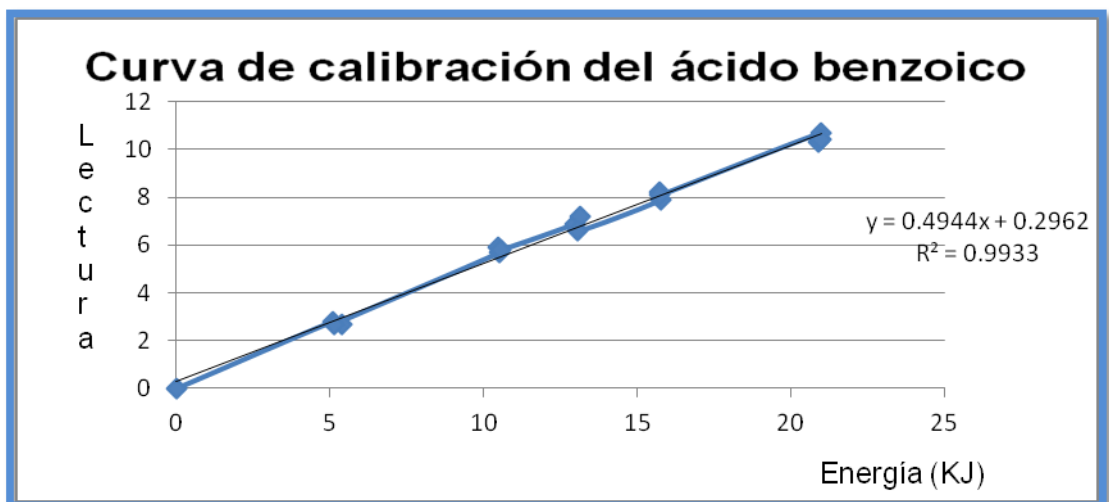


Figura 8 Curva estándar obtenida del ácido benzoico

Anexo II. Ejemplo de cálculos de Dietas

Análisis Bromatológico de la harina de frijol negro

Componente	Valor experimental en base húmeda
Humedad	10.0±. 03
Proteína cruda	18.45± 0.35
Grasa cruda	3.68± 0.08
Fibra	2.10± 0.05
Ceniza	2.73± 0.35
Hidratos de carbono	63.04
Hierro	8.1 mg ± 0.12
Calcio	138.5 mg ± 7.65
Energía (KJ/100 g)	358.8
total	100

Como la dieta debía ser isoproteínica con respecto a la de referencia se calculó a 10 % de proteína:

$$\frac{10 \text{ g Proteína} \times 100 \text{ g muestra}}{18.45 \text{ g Proteína de Frijol}} = 54.20 \text{ g muestra}$$

En 54.20 g de muestra se tenían 10 g de proteína de frijol negro, pero a su vez dicha cantidad proporcionó lo siguiente:

$$\frac{54.20 \text{ g muestra} \times 3.67 \text{ g muestra}}{100} = 1.99 \text{ g lípidos}$$

De igual manera se calculó el contenido de hidratos de carbono digeribles, cenizas, fibra cruda y humedad:

Hidratos de carbono

$$\frac{54.20 \text{ g} \times 63.04 \text{ g}}{100} = 34.17 \text{ g hidratos de carbono}$$

Cenizas

$$\frac{54.20 \text{ g} \times 2.73 \text{ g}}{100} = 1.48 \text{ g ceniza}$$

Fibra

$$\frac{54.20 \text{ g} \times 2.09 \text{ g}}{100} = 1.13 \text{ g fibra}$$

Humedad

$$\frac{54.20 \text{ g} \times 10 \text{ g}}{100} = 5.42 \text{ g ceniza}$$

Ya que la dieta de referencia (caseína) tuvo una densidad energética de 18.0 kJ/g se ajustó el contenido energético de la harina del frijol negro de siguiente manera:

Se calculó las proporciones de cada uno de los ingredientes que aportan hidratos de carbono en la dieta de referencia (caseína).

Los 66 g (100%) de hidratos de carbono totales provenían de:

Ingrediente	g	Cálculo	Relación en %
Sacarosa	22	$(22 \times 100) / 66$	33.33
Glucosa	19	$(19 \times 100) / 66$	28.79
Dextrina	25	$(25 \times 100) / 66$	37.88

Igualmente se calcularon las proporciones para los lípidos considerando 14 g como total:

Ingrediente	G	Cálculo	Relación en %
Manteca	8.0	$(8 \times 100) / 14$	57.14
Aceite de maíz	6.0	$(6 \times 100) / 14$	42.86

Una vez conocidas las proporciones en las que se encontraban tanto los hidratos de carbono como los lípidos en la dieta de referencia, la dieta de frijol negro se ajustó de la siguiente forma:

Hidratos de carbono:

La fuente de proteína aporta 34.17 g de hidratos de carbono, entonces se calculó cuánto se debe adicionar para completar los 66 g que se requiere para que se mantenga isoenergética la dieta con respecto a la de referencia.

$66 \text{ g} - 34.17 \text{ g} = 31.83 \text{ g}$ de hidratos de carbono que se adicionaron.

Ingrediente	Cálculo	Cantidad a adicionar (g)
Sacarosa	$(31.83 \times 33.33) / 100$	10.60
Glucosa	$(31.83 \times 28.79) / 100$	9.16
Dextrina	$(31.83 \times 37.88) / 100$	12.05

De igual forma se ajustó el contenido de lípidos:

$14.0 \text{ g} - 1.92 \text{ g} = 12.08 \text{ g}$ de lípidos que se adicionaron.

Ingrediente	Cálculo	Cantidad a adicionar (g)
Manteca	$(12.08 \times 57.14) / 100$	6.90
Aceite	$(12.08 \times 42.86) / 100$	5.17
	Total	12.07

Una vez ajustados el contenido de proteína, hidratos de carbono y lípidos en la dieta se ajustó el contenido de minerales:

2 g (referencia) – 1.48 g (fuente de proteína) = 0.52 g de minerales a adicionar.

Se adicionaron 1 g de vitaminas y 0.40 de colina.

Para completar 100 g de dieta, se debe mencionar que al no considerarse la humedad en las dietas, hubo una pequeña discrepancia entre las dietas, por lo que se usó celulosa para ajustar la formulación de la siguiente manera:

Celulosa adicional = $100 - \Sigma$ (proteína, hidratos de carbono, lípidos, minerales, vitaminas y colina).

Dieta de frijol negro	%
Frijol negro	54.20
Sacarosa	10.60
Glucosa	9.16
Dextrina	12.05
Manteca	6.90
Aceite	5.17
Mezcla de sales y nutrimentos inorgánicos	0.52
Colina	0.40
Vitaminas	1
Celulosa	-

Anexo III. Datos del hierro y calcio adicionados

Hierro

- Fumarato ferroso

Marca: Ferval, laboratorios Valdecasas S.A. (frasco con 50 tabletas)

Cada tableta contiene:

<i>Fumarato ferroso</i>	<i>200 mg</i>
Equivalente a	65.74 mg
Hierro elemental	
Excipiente cbp.	1 tableta

Calcio

- Citrato de calcio/ Vitamina D₃

Marca: Citracal, laboratorios Ultradense

Cada tableta contiene:

<i>Citrato de calcio tetrahidratado</i>	<i>1495 mg</i>
Equivalente de calcio	2 mg
Equivalente a 200UI de vitamina	
D₃	1 tableta
Excipiente cbp.	

- Mezcla de vitaminas (M P. Biomedicals, LLC. N° Cat. 904654)
- Mezcla de minerales (M P. Biomedicals, LLC. N° Cat. 902842)
- Celulosa (MP. Biomedicals, LLC. N° Cat. 900453)
- Solución de Colina al 50% (Merk®. N° Cat. 5.00117.5000)

Anexo IV Incremento de peso y alimento consumido de los animales durante 28 días

Donde

1. Peso inicial.
2. Peso final.
3. Diferencia de peso final –peso inicial.
- 4 Alimento consumido durante los 28 días de experimentación

Dieta		Caseína		
Rata	Pi ¹	Pf ²	DP ³	AI ⁴
1	34.8	120.9	86.1	286.9
2	43.9	108.9	65	237.7
3	44	116.7	72.7	278.3
4	41.6	120.5	78.9	314.1
5	41.6	139.6	98	340
6	51	148.2	97.2	398.7
promedio	42.82	125.80	82.98	309.28
DE	5.23	14.92	13.29	55.76
CV	12.22	11.86	16.02	18.03

Dieta		FN		
Rata	Pi ¹	Pf ²	DP ³	AI ⁴
1	35.2	74.5	39.3	248.7
2	43.8	73.9	30.1	226.4
3	44.5	80.3	35.8	245.9
4	41.4	81.5	40.1	231.9
5	41.6	76.9	35.3	234.2
6	50.9	79.8	28.9	252.3
promedio	42.90	77.82	34.92	239.90
DE	5.11	3.19	4.61	10.45
CV	11.91	4.10	13.21	4.36

Dieta		FN+ Ca		
Rata	Pi ¹	Pf ²	DP ³	AI ⁴
1	38.6	83.5	44.9	323
2	43.2	75.7	32.5	234.1
3	45.2	72.1	26.9	229.2
4	40.4	74.8	34.4	217
5	41.8	76.9	76.7	225.6
6	28.9	67.7	38.8	185.9
promedio	39.68	75.12	42.37	235.80
DE	5.75	5.25	17.88	46.04
CV	14.49	6.99	42.20	19.52

Dieta		FN+ Fe			
Rata	Pi ¹	Pf ²	DP ³	Al ⁴	
1	40.3	64.9	24.6	267.8	
2	42.7	67.3	24.6	178.4	
3	45.9	71.3	25.4	247.8	
4	39.1	66.8	27.7	188	
5	42.7	76.9	34.2	212.8	
6	47.1	70.6	23.5	212.5	
promedio	42.97	69.63	26.67	217.88	
DE	3.09	4.30	3.95	34.33	
CV	7.20	6.17	14.81	15.76	

Dieta		FN+HMN 50:50			
Rata	Pi ¹	Pf ²	DP ³	Al ⁴	
1	39.4	108.8	69.4	289.9	
2	43.9	106	62.1	316.5	
3	45.7	107.9	62.2	317.3	
4	39.8	100	60.2	278.6	
5	42.5	130.6	88.1	359.4	
6	47.4	126	78.6	324.5	
promedio	43.12	113.22	70.10	314.37	
DE	3.19	12.17	11.15	28.36	
CV	7.39	10.75	15.90	9.02	

Dieta		Cas+ Ca			
Rata	Pi ¹	Pf ²	DP ³	Al ⁴	
1	38.1	132.7	94.6	318.2	
2	43.4	137.4	94	334	
3	45.1	127.4	82.3	290	
4	40.5	147.3	106.8	314.8	
5	41.8	128.4	86.6	289.1	
6	49.4	140.5	91.1	314.1	
promedio	43.05	135.62	92.57	310.03	
DE	3.93	7.64	8.39	17.43	
CV	9.13	5.63	9.06	5.62	

Dieta	Cas+ Fe			
Rata	Pi ¹	Pf ²	DP ³	AI ⁴
1	39.4	100.9	61.5	236.2
2	43	114.1	71.1	270.8
3	45.8	121.3	75.5	279.9
4	39.7	122.6	82.9	301.6
5	42.6	125.6	83	285.1
6	47.4	152.2	104.8	307.5
promedio	42.98	122.78	79.80	280.18
DE	3.20	16.91	14.66	25.50
CV	7.45	13.77	18.37	9.10

Anexo V. Incremento de peso y alimento consumido de los animales durante 11 días

Donde

1. Peso inicial.
2. Peso final.
3. Diferencia de peso final –peso inicial.
- 4 Alimento consumido durante los 28 días de experimentación

Dieta	Caseína			
Rata	Pi ¹	Pf ²	DP ³	AI ⁴
1	34.8	63.3	28.5	66.9
2	43.9	58.3	14.4	63.3
3	44	68.8	24.8	74.9
4	41.6	61.8	20.2	63.1
5	41.6	69.2	27.6	79.2
6	51	80.6	29.6	105.6
promedio	42.82	67.00	24.18	75.50
DE	5.23	7.87	5.86	16.10
CV	12.22	11.74	24.23	21.33

Dieta	FN			
Rata	Pi ¹	Pf ²	DP ³	AI ⁴
1	35.2	44.4	9.2	59.2
2	43.8	52.9	9.1	67.7
3	44.5	54.9	10.4	72.5
4	41.4	50.2	8.8	52.6
5	41.6	55.1	13.5	68.1
6	50.9	62.3	11.4	73.7
promedio	42.90	53.30	10.40	65.63
DE	5.11	5.93	1.81	8.17
CV	11.91	4.10	13.21	4.36

Dieta		FN+ Ca			
Rata	Pi ¹	Pf ²	DP ³	Al ⁴	
1	38.6	48.2	9.6	59.5	
2	43.2	55.4	12.2	65.6	
3	45.2	53.9	8.7	67.6	
4	40.4	48.6	8.2	55.8	
5	41.8	52.3	10.5	63.7	
6	28.9	43.1	14.2	46.9	
promedio	39.68	50.25	10.57	59.85	
DE	5.75	4.52	2.28	7.64	
CV	14.49	8.99	21.54	12.77	

Dieta		FN+ Fe			
Rata	Pi ¹	Pf ²	DP ³	Al ⁴	
1	40.3	46	5.7	61.6	
2	42.7	48.3	5.6	44.9	
3	45.9	51.1	5.2	62.9	
4	39.1	47.3	8.2	47	
5	42.7	46.3	3.6	59.1	
6	47.1	51.1	4	63.2	
promedio	42.97	48.35	5.38	56.45	
DE	3.09	2.28	1.63	8.29	
CV	7.20	4.71	30.19	14.68	

Dieta		FN+HMN 50:50			
Rata	Pi ¹	Pf ²	DP ³	Al ⁴	
1	39.4	62.3	22.9	78.1	
2	43.9	63.6	19.7	78.6	
3	45.7	69.6	23.9	93.8	
4	39.8	52.3	12.5	56.7	
5	42.5	69.5	27	86.1	
6	47.4	78.9	31.5	97.8	
promedio	43.12	66.03	22.92	81.85	
DE	3.19	8.93	6.48	14.65	
CV	7.39	13.52	28.29	17.89	

Dieta		Cas+ Ca			
Rata	Pi ¹	Pf ²	DP ³	AI ⁴	
1	38.1	70.5	32.4	77.1	
2	43.4	75.3	31.9	81	
3	45.1	72.6	27.5	75.8	
4	40.5	67.9	27.4	73.8	
5	41.8	65.1	23.3	64.5	
6	49.4	76.6	27.2	71.1	
promedio	43.05	71.33	28.28	73.88	
DE	3.93	4.39	3.39	5.67	
CV	9.13	6.16	11.98	7.67	

Dieta		Cas+ Fe			
Rata	Pi ¹	Pf ²	DP ³	AI ⁴	
1	39.4	59.6	20.2	61.1	
2	43	61.9	18.9	68.8	
3	45.8	67.3	21.5	75.5	
4	39.7	59.1	19.4	73.7	
5	42.6	66.1	23.5	67.4	
6	47.4	78.3	30.9	72.4	
promedio	42.98	65.38	22.40	69.82	
DE	3.20	7.16	4.48	5.23	
CV	7.45	10.95	20.00	7.49	

Anexo VI Nitrógeno ingerido y nitrógeno fecal

NF: nitrógeno fecal

NI: nitrógeno ingerido

AI: alimento ingerido

TH : total de heces

Las heces totales y el alimento ingerido fueron tomados durante la última semana de experimentación

FN	TH (g)	%NF	AI (g)	%NI
X	9.46	0.52	69.65	1.33
DE	2.24	0.11	7.97	0.29

FN +Ca	TH (g)	%NF	Al (g)	%NI
X	8.58	0.46	61.83	1.2
DE	2.06	0.12	2.8	0.24

FN + Fe	TH (g)	%NF	Al (g)	%NI
X	6.87	0.46	56.3	0.95
DE	0.66	0.06	1.72	0.18

FN50 : HMN	TH (g)	%NF	Al (g)	%NI
X	8.39	0.45	92.77	1.61
DE	2.12	0.09	12.98	0.23

Cas	TH (g)	%NF	Al (g)	%NI
X	5.47	0.13	92.77	1.47
DE	0.92	0.01	12.98	0.21

Cas +Ca	TH (g)	%NF	Al (g)	%NI
X	5.52	0.12	92.48	1.5
DE	0.81	0.02	6.66	0.11

Cas+ Fe	TH (g)	%NF	Al (g)	%NI
X	5.13	0.06	76.78	1.22
DE	0.37	0.01	8.97	0.14

Anexo VII. Análisis estadístico

ANOVA

Δp de crecimiento

ANOVA

F5

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	22833.210	6	3805.535	64.934	.000
Intra-grupos	1758.200	30	58.607		
Total	24591.410	36			

Duncan^{a,b}

crecimiento	N	Subconjunto para alfa = .05		
		1	2	3
4.00	6	25.6833		
3.00	5	31.5000		
2.00	6	34.9167		
5.00	6		70.1000	
7.00	5		74.8400	
1.00	4		75.6750	
6.00	6			92.0667
Sig.		.067	.264	1.000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 5.316.

b. Los tamaños de los grupos no son iguales. Se utilizará la media armónica de los tamaños de los grupos. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

REP y RNP

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
RNP	Inter-grupos	39.088	6	6.515	51.582	.000
	Intra-grupos	3.915	31	.126		
	Total	43.003	37			
REP	Inter-grupos	21.084	6	3.514	76.838	.000
	Intra-grupos	1.509	33	.046		
	Total	22.593	39			

RNP_a

Duncan ^{a,b}	F1	N	Subconjunto para alfa = .05				
			1	2	3	4	5
4.00	4	4	1.7701				
3.00	6	6	2.1629	2.1629			
2.00	6	6		2.2780			
5.00	6	6			3.2734		
1.00	4	4				4.0234	
7.00	6	6				4.1406	4.1406
6.00	6	6					4.5303
Sig.			.081	.601	1.000	.594	.083

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 5.250.

b. Los tamaños de los grupos no son iguales. Se utilizará la media armónica de los tamaños de los grupos. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

REP_a

Duncan ^{a,b}	F1	N	Subconjunto para alfa = .05		
			1	2	3
4.00	4	4	1.1331		
3.00	6	6	1.1584		
2.00	6	6	1.1947		
5.00	6	6		1.8909	
1.00	6	6			2.5000
7.00	6	6			2.6270
6.00	6	6			2.6973
Sig.			.625	1.000	.121

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 5.600.

b. Los tamaños de los grupos no son iguales. Se utilizará la media armónica de los tamaños de los grupos. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

Digestibilidad aparente

Da_Nitrogeno

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	11952.877	6	1992.146	86.138	.000
Intra-grupos	809.463	35	23.128		
Total	12762.340	41			

Biodisponibilidad de energía

@_Eda

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	206.541	6	34.423	13.362	.000
Intra-grupos	90.171	35	2.576		
Total	296.712	41			

Biodisponibilidad de hierro y calcio

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
bio_ca	Inter-grupos	4036.540	6	672.757	37.002	.000
	Intra-grupos	636.360	35	18.182		
	Total	4672.899	41			
bio_fe	Inter-grupos	17929.903	6	2988.317	160.267	.000
	Intra-grupos	615.313	33	18.646		
	Total	18545.215	39			

Pruebas DUNCAN

Para poder identificar se enumeraron las dietas.

Grupo 1 Caseína

Grupo 2 Frijol Negro

Grupo 3 Frijol negro + calcio

Grupo 4 Frijol negro + Hierro

Grupo 5 Harina de Maiz Nixtamalizada + Frijol Negro

Grupo 6 Caseína + Calcio

Grupo 7 Caseína + Hierro

Δp de crecimiento

F5

Duncan ^{a,b}		Subconjunto para alfa = .05		
crecimiento	N	1	2	3
4.00	6	25.6833		
3.00	4	31.2500		
2.00	6	34.9167		
5.00	6		70.1000	
7.00	5		74.8400	
1.00	4		75.6750	
6.00	6			92.0667
Sig.		.077	.281	1.000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

- Usa el tamaño muestral de la media armónica = 5.122.
- Los tamaños de los grupos no son iguales. Se utilizará la media armónica de los tamaños de los grupos. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

RNP

F1	N	Subconjunto para alfa = .05				
		1	2	3	4	5
Duncan ^{a,b}	4	1.7748				
4.00	6	2.1792	2.1792			
3.00	6		2.2953			
2.00	6			3.2982		
5.00	6				4.0539	
1.00	4				4.1720	4.1720
7.00	6					4.5646
6.00	6					4.5646
Sig.		.075	.601	1.000	.594	.083

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

- a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 5.250.
- b. Los tamaños de los grupos no son iguales. Se utilizará la media armónica de los tamaños de los grupos. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

REP

F1	N	Subconjunto para alfa = .05		
		1	2	3
Duncan ^{a,b}	4	1.2346		
4.00	6	1.2622		
3.00	6	1.3017		
2.00	6		2.0603	
5.00	6			2.7239
1.00	6			2.8622
7.00	6			2.9389
6.00	6			2.9389
Sig.		.625	1.000	.121

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

- a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 5.600.
- b. Los tamaños de los grupos no son iguales. Se utilizará la media armónica de los tamaños de los grupos. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

Digestibilidad aparente

Da_Nitrogeno

Duncan ^a		Subconjunto para alfa = .05			
Lote	N	1	2	3	4
4.00	6	50.5991			
2.00	6		60.5513		
3.00	6		61.6346		
5.00	6			72.4103	
6.00	6				92.0662
1.00	6				92.6818
7.00	6				94.9684
Sig.		1.000	.699	1.000	.332

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

- a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 6.000.

Biodisponibilidad de energía

@_Eda

Duncan ^a		Subconjunto para alfa = .05	
Lote	N	1	2
2.00	6	87.9198	
3.00	6	88.2515	
4.00	6	89.8797	
5.00	6		92.4460
7.00	6		92.8898
1.00	6		93.1891
6.00	6		93.4107
Sig.		.052	.351

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

- a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 6.000.

Biodisponibilidad de calcio

bio_ca

F1	N	Subconjunto para alfa = .05				
		1	2	3	4	5
Duncan ^a						
3.00	6	60.2433				
6.00	6		74.0314			
2.00	6		77.9237	77.9237		
7.00	6		77.9497	77.9497		
4.00	6			82.5242	82.5242	
5.00	6				87.2315	
1.00	6					93.6238
Sig.		1.000	.141	.085	.064	1.000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 6.000.

Biodisponibilidad de hierro

bio_fe

F1	N	Subconjunto para alfa = .05			
		1	2	3	4
Duncan ^{a,b}					
7.00	4	21.8450			
6.00	6		51.3602		
1.00	6			80.4183	
2.00	6			80.5219	
4.00	6				86.9322
3.00	6				87.0337
5.00	6				89.5807
Sig.		1.000	1.000	.968	.341

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 5.600.

b. Los tamaños de los grupos no son iguales. Se utilizará la media armónica de los tamaños de los grupos. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.