



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

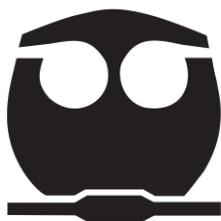
**“Evaluación Nutrimental y Biodisponibilidad de
Hierro y Calcio en Avena empleando métodos
biológicos”**

TESIS

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

PRESENTA

DIANA ROCÍO DEL REAL CHOMBO



MÉXICO, D.F.

2012



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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 Lucía Cornejo Barrera.

VOCAL: Dra Iliana Elvira González Hernández.

SECRETARIO: M en C Verónica García Saturnino.

1er. SUPLENTE: QA Jeanette Adriana Aguilar Navarro.

2° SUPLENTE: M en C Argelia Sánchez Chinchillas.

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

Laboratorio 4C, Edificio A, Departamento de Alimentos y Biotecnología. Facultad de Química. U.N.A.M.

ASESOR DEL TEMA:

M en C Lucía Cornejo Barrera

SUPERVISOR TÉCNICO:

M en C Argelia Sánchez Chinchillas

SUSTENTANTE:

Diana Rocío Del Real Chombo

Esta tesis forma parte del proyecto PAPIME PE 203210 “Desarrollo y validación de métodos biológicos empleados en la determinación de la calidad nutrimental de un alimento, basados en ganancia de peso corporal, balance de nitrógeno y energía y su biodisponibilidad”

Agradecimientos

A la Universidad Nacional Autónoma de México y a la Facultad de Química por contribuir de manera decisiva en mi formación profesional.

A la M en C Lucia Cornejo Barrera por haberme brindado su amistad y dado la oportunidad de participar en el desarrollo de este proyecto.

A la M en C Argelia Sánchez Chinchillas quien fungió en este proyecto como supervisor técnico, por todo su apoyo y orientación durante el proceso de esta investigación.

A la M en C Verónica García Saturnino y a la Dra. Iliana Elvira González Hernández, quienes participaron como mis sinodales, ayudándome a mejorar el presente trabajo con sus valiosas observaciones.

Al M en C Bernardo Lucas Florentino por facilitar el uso de las instalaciones de su laboratorio y con ello permitir el desarrollo experimental de este proyecto.

A Sandrita Flores por su sincera amistad y apoyo durante el desarrollo de esta tesis.

A Bere, Claus, Angie y Chucho por haberme ofrecido su amistad incondicional desde el inicio de la carrera.

A Jackie por significar un elemento valioso en mi desarrollo personal y profesional.

A Rox, Sandriux, Chío, Elisirijilla, Hugo, Julio, Markitos, Dany, Rod, Donovan y Anel, por brindarme su grandiosa amistad a lo largo de todos estos años.

A mi queridísima amiga Aline y a su familia por hacerme sentir como parte de ella.

A mis compañeros de secundaria, Elena, Cheo y Laura, quienes me brindaron su estupenda amistad.

A todos mis compañeros de la Facultad de Química, quienes hicieron que mi estancia en ella fuera aún más agradable.

Dedicatorias

A mis padres, Ma. Del Rocío Chombo Morales† y Francisco Del Real Vázquez por todos los valores que me inculcaron, por brindarme su cariño, apoyo y comprensión durante esta trayectoria, pero sobre todo por darme la inestimable oportunidad de estudiar una carrera. No tengo palabras para expresarles mi infinito agradecimiento, los quiero mucho.

A mi hermano “el mostro”, por su paciencia, compañía y consejos a lo largo de todos estos años, aunque no lo creas, te quiero un buen.

A mi abuelita Pachita† por sus cuidados, cariño y comprensión, ya que formaron parte de mi desarrollo y me permitieron seguir adelante en tiempos difíciles.

A toda mi familia (abuelos, tíos y primos), por su invaluable aprecio y apoyo en el transcurso de este periodo.

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN	8
II. ANTECEDENTES	9
1. Avena (<i>Avena sativa</i>)	9
1.1 <i>Características botánicas</i>	9
1.2 <i>Producción mundial</i>	10
1.3 <i>Producción nacional</i>	11
1.4 <i>Valor nutrimental</i>	12
1.5 <i>Consumo</i>	16
2. <i>Proteínas</i>	16
2.1 <i>Calidad proteínica</i>	17
2.2 <i>Métodos para evaluar la calidad proteínica</i>	17
2.2.1 <i>Métodos químicos</i>	17
2.2.2 <i>Métodos biológicos</i>	18
2.2.2.1 <i>Ganancia en peso de los animales</i>	18
2.2.2.2 <i>Balance de nitrógeno</i>	19
i) <i>Digestibilidad verdadera</i>	19
ii) <i>Utilización neta de la proteína (UNP)</i>	19
iii) <i>Valor Biológico (VB)</i>	19
2.2 <i>Ventajas y desventajas de los métodos químicos y biológicos</i>	19
3. <i>Nutrientes inorgánicos</i>	20
3.1 <i>Hierro</i>	20
3.1.1 <i>Contenido en el organismo</i>	20
3.1.2 <i>Funciones</i>	20
3.1.3 <i>Fuentes alimentarias</i>	21
3.1.4 <i>Ingesta diaria recomendada (IDR)</i>	22
3.1.5 <i>Absorción</i>	22
3.1.6 <i>Transporte, almacenamiento y excreción</i>	23
3.1.7 <i>Deficiencias</i>	24
3.2 <i>Calcio</i>	25
3.2.1 <i>Contenido en el organismo</i>	25
3.2.2 <i>Funciones</i>	25
3.2.3 <i>Fuentes alimentarias</i>	26
3.2.4 <i>Ingesta diaria recomendada (IDR)</i>	26
3.2.5 <i>Absorción</i>	27
3.2.6 <i>Transporte y excreción</i>	28
3.2.7 <i>Deficiencias</i>	28
4. <i>Biodisponibilidad de micronutrientes</i>	30
5. <i>Contenido energético</i>	30

III. OBJETIVOS	32
i) General.....	32
ii) Específicos	32
IV. METODOLOGÍA	33
6. Selección y acondicionamiento de la muestra	34
6.1 Análisis químicos	34
6.1.1 Análisis bromatológico	34
6.1.2 Determinación de hierro.....	34
6.1.3 Determinación de calcio.....	38
6.1.4 Determinación de densidad energética	40
6.2 Análisis biológicos.....	43
6.2.1 Determinación de la Relación de Eficiencia Proteínica ajustada (REP _a)	43
6.2.2 Determinación de la Relación Neta de la Proteína ajustada (RNP _a).....	47
6.2.3 Determinación de Digestibilidad aparente (D _a).....	49
6.2.4 Preparación de dietas	51
6.3 Balance de nutrimentos inorgánicos y de energía.....	54
6.3.1 Determinación de biodisponibilidad de hierro	54
6.3.2 Determinación de biodisponibilidad de calcio	54
6.3.3 Balance energético	55
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	57
7. <i>Determinación del análisis bromatológico de la avena y su contenido de hierro y calcio.</i>	57
8. <i>Curvas de crecimiento</i>	59
9. <i>Determinación de la REP_a y de la RNP_a</i>	60
10. <i>Determinación de Digestibilidad aparente (D_a)</i>	62
11. <i>Determinación de biodisponibilidad de hierro</i>	66
12. <i>Determinación de biodisponibilidad de calcio</i>	69
13. <i>Determinación de balance energético</i>	73
14. <i>Determinación de Energía Gruesa (EG) y Energía Digerible (ED)</i>	74
VI. CONCLUSIONES	76
VII. BIBLIOGRAFÍA	77
VIII. ANEXOS	82

I. INTRODUCCIÓN

La avena es uno de los cereales más importantes y completos en la alimentación mundial (Romo, 2007), es rica en proteínas, hidratos de carbono, lípidos (ácido linoleico), vitaminas (vit. E) y nutrimentos inorgánicos (calcio, manganeso y sodio). Sin embargo, por razones histórico-culturales, en México ha sido un cereal poco apreciado para el consumo humano ya que se ha destinado en proporciones mayores para la alimentación del ganado.

Por otro lado, la carencia de hierro en la alimentación humana puede generar anemia ferropénica, la cual es un problema de salud pública mundial que en nuestro país afecta al 16.6% de los niños (5 a 11 años de edad), así como al 36.1% de las mujeres en edad fértil (Olaiz, 2006). Además, la deficiencia de calcio representa un problema de salud frecuente, reflejado en alteraciones como raquitismo (lactantes y niños), osteomalacia y osteoporosis (adultos), (Kaufer, 2001).

Considerando lo anterior, así como las características relacionadas con el valor nutrimental de la avena (las cuales son conocidas), se decidió corroborar su calidad proteínica y la biodisponibilidad de hierro y calcio, debido a que estos valores no son de fácil acceso. Los métodos biológicos empleados para dicha determinación fueron: Relación de Eficiencia Proteínica (REP), Relación Neta de la Proteína (RNP), digestibilidad (D) y balance energético (BE), los cuales formarán parte de una base de datos para consulta bajo las condiciones experimentales con las que se cuenta en los laboratorios del Departamento de Alimentos y Biotecnología de la Facultad de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México.

II. ANTECEDENTES

1. *Avena (Avena sativa)*

La avena (Figura 1), pertenece al género *Avena* de la familia de las Gramíneas que se cultiva desde la antigüedad. Posiblemente apareció como mala hierba en los cultivos de trigo, cebada y poco a poco se fue domesticando y aprovechando por parte del hombre (Osca, 2007).

Figura 1. *Avena sativa*



1.1 *Características botánicas*

Morfológicamente la avena es similar a otros cereales cultivados, tales como el trigo y la cebada, destacándose de entre sus características las siguientes (Osca, 2007):

- Posee una raíz fibrosa más larga que la de la cebada.
- El tallo es una caña herbácea y erguida con nudos llenos y entrenudos huecos.
- Generalmente crece de 0.6 a 1.5 m y con tres a cinco o más tallos, que varían de 0.32 a 0.64 cm de diámetro.
- Las hojas son de color verde oscuro y alcanzan alrededor de 25 cm de largo y 1.6 cm de ancho.
- Su inflorescencia es una panoja compuesta. Las ramificaciones son largas y sostienen en cada una un pequeño número de espiguillas que llevan de una a cinco flores, de las cuales dos son fértiles (ver Figura 2).
- Usualmente son de 20 a 100 espiguillas por panícula.
- Los frutos de variedades superiores están fuertemente encerrados entre la lemma y la pálea.

Figura 2. Espiguillas de *Avena sativa*.



1.2 Producción mundial

En cuanto a la producción de cereales, la avena es uno de los más importantes del mundo. Según el informe de julio de 2010 del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (FAS-USDA), Rusia encabezó la producción de dicho cereal al obtener 5.40 megatoneladas (Mt), seguida por Canadá con una producción de 2.91 Mt y en tercer lugar se posicionó Polonia con 1.42 Mt (Tabla 1).

Tabla 1. Producción de avena a nivel mundial 2009-2010

País productor	Producción (Mt)
Rusia	5.40
Canadá	2.91
Polonia	1.42
Estados Unidos de América	1.35
Finlandia	1.21
España	0.91
Alemania	0.83

Fuente: FAS-USDA, 2010.

1.3 Producción nacional

En México, los estados que mayor superficie dedican al cultivo de avena son Chihuahua, Coahuila, Zacatecas y Durango, siendo Coahuila el estado líder en el periodo otoño-invierno 2009/10, con un volumen de producción de 2,831,911 toneladas (Tabla 2).

Tabla 2. Resumen de la producción agrícola y agroindustrial de México en 2005-2010¹

Cultivo Otoño-invierno 2009	Superficie cosechada (Ha)	Producción (ton)	Estado líder	Producción (ton) OI 2009/2010 ^P	Producción 2005-2009		
					Promedio	Máxima	Mínima
Maíz grano	1,103,866	6,532,997	Sinaloa	6,696,730	6,258,433	6,612,698	5,685,777
Trigo grano	713,728	3,884,367	Sonora	3,472,405	3,367,707	3,884,367	2,813,884
Sorgo grano	849,327	2,804,583	Tamaulipas	2,928,370	2,397,162	2,804,583	2,151,906
Avena forrajera	103,967	2,557,471	Coahuila	2,831,911	2,393,163	2,576,040	2,151,076

¹ INEGI, 2011.

P: preliminares con datos a marzo de 2011.

Cabe mencionar que la avena ocupa el cuarto lugar en nuestro país, en cuanto a producción de cereales se refiere (2, 831,911 toneladas), antecedido por el maíz (6, 696,730 ton), trigo (3, 472,405 ton) y sorgo (2, 928,370 ton).

1.4 Valor nutrimental

La avena es uno de los cereales más importantes y completos en la alimentación, es rica en proteínas de alto valor biológico, hidratos de carbono, grasas, vitaminas y nutrimentos inorgánicos.

En relación a la calidad de su proteína, la avena contiene los aminoácidos necesarios para la síntesis de proteínas, además, se considera que su aporte de metionina es importante (metionina + cisteína: 4.80 g/100 g proteína) comparado contra el de trigo (metionina + cisteína: 3.60 g/100 g proteína), o el de maíz (metionina + cisteína: 3.90 g/100 g proteína), por lo que su mezcla con leguminosas como la soya, normalmente deficiente en metionina, o con leche, deficiente en aminoácidos azufrados, permite mejorar el perfil de aminoácidos de la mezcla obtenida, aproximándola a la ideal para el organismo mediante la obtención de proteínas completas con valor nutricional semejante a proteínas animales como las del huevo, cuyo contenido de metionina-cisteína es de 5.10 g/100 g proteína (Romo, 2007 y Gil, 2010).

Su valor nutrimental es superior al de otros cereales, al ser más rica en aminoácidos indispensables (Tabla 3), especialmente en *lisina* y *triptófano*, ya que al comparar su contenido promedio (2.96 y 1.26 g aminoácido/100 g proteína, respectivamente) contra el que posee el maíz (2.50 y 0.60 g aminoácido/100 g proteína, respectivamente) o contra el de trigo (2.60 y 1.10 g aminoácido/100 g proteína), se observa claramente que la proporción de dichos aminoácidos presentes en el grano de avena es superior a la de estos dos últimos cereales (Tabla 4).

Tabla 3. Composición de aminoácidos de granos de avena¹

Especificación	Avena (granos)
<i>Aminoácidos dispensables (g/16 g N)</i>	
Ácido glutámico	18.24
Ácido aspártico	7.02
Prolina	4.01
Glicina	3.93
Alanina	3.72
Serina	3.38
<i>Aminoácidos indispensables (g/16 g N)</i>	
Fenilalanina + Tirosina	5.92
Arginina	5.36
Leucina	5.25
Metionina + Cisteína	3.66
Valina	3.31
Lisina	2.76
Treonina	2.59
Isoleucina	2.49
Cisteína	2.40
Tirosina	2.35
Histidina	1.76
Triptofano	1.18

¹ Wioletta, 2009.

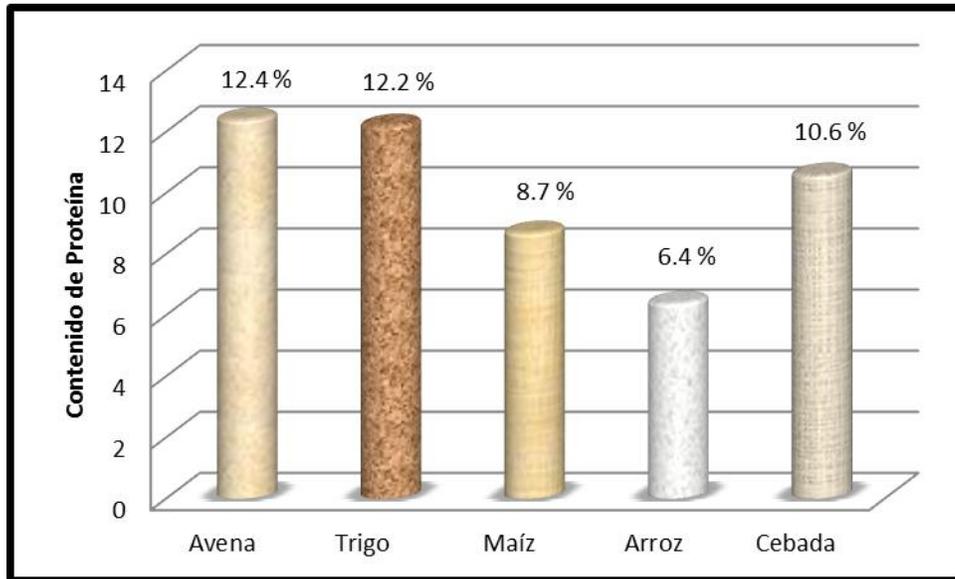
Tabla 4. Contenido de algunos aminoácidos presentes en granos de cereales y huevo¹

Aminoácido indispensable (g/100 g de proteína)	Trigo	Maíz	Avena	Huevo
Lisina	2.60	2.50	2.96	7.20
Treonina	2.80	3.20	3.60	4.40
Metionina+Cisteína	3.60	3.90	4.80	5.10
Triptofano	1.10	0.60	1.26	1.30

¹ Gil, 2010.

Además, el contenido proteínico de la avena es mayor que en trigo, maíz, arroz y cebada (Gráfico 1).

Gráfico 1. Contenido proteínico de diversos cereales¹



¹ Gil, 2010.

En lo que respecta al contenido de lípidos, la avena posee una mayor cantidad de materia grasa (6.72 %) que el centeno (1.60 %) y el trigo (1.92 %) (Muñoz, 2001). La fracción lipídica está conformada por lípidos apolares (triglicéridos) y por lípidos polares (glucolípidos y fosfolípidos, principalmente). Los ácidos grasos insaturados constituyen en promedio un 65% del total, el resto lo conforman los no saturados. El ácido graso insaturado que se encuentra en mayor proporción es el ácido linoleico (C18:2) constituyendo entre 40 y 60% de la fracción lipídica, seguido por el ácido oleico (C18:1) con un 35%. Éstos ácidos grasos reducen los niveles de colesterol y triglicéridos en sangre, por lo que disminuyen el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares (Fennema, 2000).

Por otra parte, un componente importante de la fracción polar es la lecitina, la cual es un fosfolípido indispensable para el funcionamiento del sistema nervioso, ya que es capaz de reducir el contenido de colesterol en la sangre (Romo, 2007).

Otra importante característica de este cereal es su contenido de fibra soluble (β -glucano) e insoluble, ya que la primera, según estudios nutricionales reduce los niveles de colesterol sérico, específicamente del colesterol asociado a lipoproteínas de baja densidad (LDL-colesterol), lo cual a su vez disminuye el riesgo de padecer enfermedad cardiovascular; mientras que la fibra insoluble, fortalece la actividad intestinal, disminuyendo de esta manera el riesgo de desarrollar cáncer de colon (Gil, 2010).

La avena es rica en vitamina E (1.65 mg vitamina/100 g muestra), la cual actúa en el organismo como antioxidante protegiendo a los lípidos de los daños peroxidativos (Tolonen, 1998). También contiene mayor cantidad de vitamina B₁ (0.70 mg vitamina/100 g muestra) que el trigo, maíz y centeno (0.55, 0.44, 0.44 mg vitamina/100 g muestra, respectivamente), dicho micronutriente es indispensable para el cerebro y el sistema nervioso, ya que interviene en el proceso de neurotransmisión. Además, el grano de avena posee mayor contenido de calcio (52 mg/100 g muestra), que el maíz y el centeno (30 y 37 mg/100 g muestra, respectivamente), y mayor cantidad de hierro (4.20 mg/100 g muestra) que el maíz, cuyo contenido es de 3.00 mg/100 g muestra (ver Tabla 5).

Tabla 5. Contenido aproximado de micronutrientes en granos enteros de cereales¹

Micronutriente² (mg/100 g)	Maíz	Avena	Centeno
Calcio	30.00	52.00	37.00
Zinc	1.00	2.20	3.40
Cobre	0.20	0.11	0.88
Fósforo	320.00	340.00	380.00
Hierro	3.00	4.20	9.00
Magnesio	170.00	160.00	130.00
Manganeso	0.60	5.10	1.90
Potasio	350.00	480.00	520.00
Sodio	1.00	9.00	2.00

¹ Gil, 2010.

² Contenido expresado en base seca.

1.5 Consumo

Normalmente los granos se laminan para obtener copos u hojuelas los cuales son componentes importantes para papillas, sopas, verduras, ensaladas o yogurts. Puede agregarse a frutos como plátano o manzana, frescos o deshidratados y nueces para el desayuno de niños, jóvenes y adultos (Romo, 2007).

En la industria alimenticia se emplea primordialmente en cereales y como salvado por su doble contenido de fibra en comparación con la harina común. En productos para hornear se usa por sus propiedades de retención de agua que mantienen más fresco y durante mayor tiempo al producto, mejorando la consistencia del mismo (Osca, 2007).

Los granos de avena también se emplean con fines medicinales, como diurético, contra las dispepsias (dificultad para digerir) y en dietas para determinados tipos de diabéticos. Se usa en homeopatía para tratar artritis, reumatismos, afecciones hepáticas, dolores de pecho, estimulante del apetito, contra la fatiga nerviosa, insomnio y enfermedades cutáneas (Romo, 2007).

2. Proteínas

Las proteínas son macromoléculas formadas por 20 aminoácidos distintos, los cuales se pueden clasificar de acuerdo a su dispensabilidad en la dieta. Los aminoácidos indispensables son aquellos que no pueden ser sintetizados por el organismo o que se sintetizan en bajas cantidades y son: lisina, fenilalanina, metionina, treonina, valina, triptófano, leucina e isoleucina, y para niños también son histidina y arginina. Los aminoácidos dispensables en la dieta son aquellos que sí pueden ser sintetizados por el organismo.

Las funciones de las proteínas en el organismo son regeneración y formación de tejidos, transporte y almacenamiento, síntesis de enzimas, anticuerpos y

hormonas, forman parte del tejido conectivo, muscular y de otros sistemas rígidos estructurales (Robinson, 1991).

El hombre adulto requiere aproximadamente 1.0 g de proteína por kg de peso corporal al día, al igual que una mujer adulta, sin embargo, si ésta se encuentra en periodo de embarazo o lactancia deberá ingerir entre 8 y 20 g adicionales de proteína por día, respectivamente (Muñoz, 2001).

2.1 Calidad proteínica

El factor determinante del valor nutritivo de una proteína lo constituye la *composición y proporción de los aminoácidos indispensables* contenidos en ella, así como la *biodisponibilidad* de los mismos (Mahan, 2001).

Dentro de las proteínas de alta calidad se encuentran la albúmina de huevo y la caseína de la leche, mientras que dentro de las proteínas de mediana calidad se consideran las del trigo y el garbanzo (Hernández, 1999).

2.2 Métodos para evaluar la calidad proteínica

Dentro de los ensayos para evaluar la calidad de una proteína se tienen métodos químicos y métodos biológicos, de los cuales los últimos son hasta el momento los más confiables especialmente en el estudio de las funciones de la nutrición.

2.2.1 Métodos químicos

2.2.1.1 Aminograma (perfil de aminoácidos). Se basa en la identificación y cuantificación de cada uno de los aminoácidos que constituyen las proteínas, mediante cromatografía de intercambio iónico tras hidrólisis previa de los aminoácidos. Estos últimos son separados al ser sometidos a gradientes de pH y temperatura, en función de su punto isoeléctrico y peso molecular.

2.2.1.2 Cómputo e índice químico. Es el valor numérico de la relación que existe entre la composición de una proteína de referencia (patrón de la FAO) y el aminoácido limitante.

2.2.1.3 Lisina biodisponible. Este método se basa en la reacción de los grupos amino libres con dinitrofluorobenceno, con formación del complejo dinitrofenil-aminoácido y posterior cuantificación por colorimetría. La lisina puede cuantificarse de esta manera, debido a que este aminoácido posee dos grupos amino en su estructura (Pérez, 1998).

2.2.2 Métodos biológicos

Existen dos tipos de ensayos biológicos, aquellos que se basan en la ganancia en peso de los animales y los que se basan en el balance de nitrógeno.

2.2.2.1 Ganancia en peso de los animales

La *Relación de Eficiencia Proteínica (REP)*, es el método biológico más utilizado para evaluar la calidad de la proteína. Sin embargo tiene el inconveniente de que al basarse en el crecimiento de los animales de estudio, proteínas de baja o mala calidad nutritiva, manifiestan una respuesta muy variable, debido a que se exagera la variabilidad intraespecie y con este método es difícil asignar un valor preciso, ya que las proteínas de baja calidad, solo pueden cubrir una parte de las necesidades de mantenimiento de proteína (AOAC, 2005).

El anterior inconveniente puede solucionarse mediante la determinación del ensayo de la *Relación Neta de la Proteína (RNP)*, el cual estima la cantidad de peso corporal que se perdería si el animal de experimentación no ingiriera proteína durante el periodo de ensayo, ya que antes de que se genere el incremento de peso corporal, la proteína por ensayar debe cubrir las necesidades proteínicas de mantenimiento.

2.2.2.2 Balance de nitrógeno

i) **Digestibilidad verdadera.** La digestibilidad verdadera (D) está definida como la disponibilidad de los aminoácidos constituyentes de la proteína para ser absorbidos por el organismo de prueba, se calcula a partir del nitrógeno ingerido, nitrógeno fecal y del nitrógeno fecal metabólico.

ii) **Utilización neta de la proteína (UNP).** Es el cociente entre la cantidad de nitrógeno retenido y la de nitrógeno total ingerido y está influido por el valor biológico de una proteína así como por su digestibilidad (Robinson, 1991).

iii) **Valor Biológico (VB).** Es una medida de la proporción de proteína absorbida de la dieta, que es incorporada a la proteína del organismo. Relaciona la cantidad de nitrógeno absorbido procedente de la dieta de prueba y la cantidad de nitrógeno incorporado al organismo, multiplicado por 100.

2.2 Ventajas y desventajas de los métodos químicos y biológicos

Tabla 6. Ventajas y desventajas de los métodos para evaluar calidad proteínica

Método	Ventajas	Desventajas
Químico	<ul style="list-style-type: none">• La duración del ensayo es relativamente corta.• Evalúan el contenido de aminoácidos e indirectamente la calidad proteínica.• Algunas determinaciones pueden resultar más económicas que los ensayos biológicos.	<ul style="list-style-type: none">• No es posible detectar si el alimento analizado contiene factores tóxicos o antinutrientales.• Se debe contar con equipo especializado para poder realizar los análisis.• Se requiere conocimiento previo sobre manejo de instrumental y equipo.
Biológico	<ul style="list-style-type: none">• Evalúan la calidad proteínica.• Puede conocerse la toxicidad de la muestra.• La cantidad de muestra a analizar es pequeña (g).• Se pueden analizar varias muestras a la vez.	<ul style="list-style-type: none">• La duración del ensayo es relativamente larga.• Resultan más costosos que los métodos químicos.• Se requiere equipo especializado para realizar los ensayos biológicos.• Se requiere conocimiento previo sobre manejo de animales y equipo.

3. Nutrimientos inorgánicos

3.1 Hierro

3.1.1 Contenido en el organismo

El contenido total de hierro en un individuo normal es aproximadamente de 3.5 a 4 g en la mujer y de 4 a 5 g en el hombre. La mayor parte de esta cantidad (65 % aproximadamente) se encuentra en la hemoglobina, el 10% en la mioglobina y el resto en el hígado, bazo, riñones, médula ósea y otros órganos (Tolonen, 1998).

El hierro del hígado, bazo y médula ósea forma parte de la ferritina y la hemosiderina. La ferritina es un complejo soluble (proteína-hierro) que contiene un 20% de hierro y es la principal forma de almacenamiento de dicho micronutriente en los tejidos. Puede agregarse en depósitos conocidos como hemosiderina (complejos insolubles), los cuales contienen un 35% de hierro.

3.1.2 Funciones

Las principales funciones del hierro en el organismo son:

- Transportar oxígeno, como constituyente de la hemoglobina.
- Intervenir en la respiración celular formando parte de enzimas implicadas en el proceso (citocromos).
- Participar en las funciones de defensa del organismo (funciones inmunitarias).
- Intervenir en la función y síntesis de neurotransmisores, por lo que es necesario para una función cerebral normal.
- Destoxificar al organismo, catalizando la oxidación de compuestos hidrofóbicos (fármacos o drogas), por medio de los citocromos P450, facilitando su excreción (Mataix, 2005).

3.1.3 Fuentes alimentarias

El hierro contenido en los alimentos existe en dos formas: hierro hemo o hemínico y hierro no hemo. El primero forma parte del grupo prostético hemo de proteínas como la hemoglobina y la mioglobina; se encuentra presente en carne, hígado, moronga y en vísceras. Sin embargo, es importante señalar que no todo el hierro proveniente de fuentes animales es de tipo hemo, por ejemplo: el hierro contenido en la leche y el huevo es de tipo no hemo (Mataix, 2005).

El hierro no hemo se encuentra predominante en alimentos de origen vegetal, tales como, cereales, leguminosas, frutos secos y vegetales de hoja verde. Este tipo de hierro se encuentra sujeto a factores que facilitan o impiden que se absorba en mayor o menor proporción, por lo que la biodisponibilidad de este micronutriente en dichos alimentos es menor, ya que el hierro en forma no hemo se absorbe menos en el organismo que el hierro hemo (Robinson, 1999).

A continuación se presenta el contenido de hierro de algunos alimentos:

Tabla 7. Contenido de hierro de algunos alimentos¹

Alimento	mg Fe/ 100 g alimento (base seca)
Sangre	50.0
Levadura seca	35.0
Cacao en polvo	14.0
Garbanzo	9.0
Hígado de res	8.0
Lentejas	7.0
Harina de avena	4.1
Espinacas frescas	3.6
Huevos	3.0
Harina de trigo	1.5

¹Lloyd, 1999

3.1.4 Ingesta diaria recomendada (IDR)

La Ingesta Diaria Recomendada de hierro para un adulto sano en condiciones normales es de 15 mg al día, mientras que para una mujer embarazada la recomendación se incrementa a 30 mg/ día (Muñoz, 2001).

3.1.5 Absorción

El hierro hemínico es absorbido por el organismo en una proporción más o menos constante de 10 a 15%, en cambio, la absorción del hierro no hemo es más baja y está dada en una proporción de 2 a 5 %.

La absorción del hierro tiene lugar en el duodeno y en la parte superior del yeyuno y, para que sea óptima, el hierro debe estar en forma soluble.

En el caso del hierro hemo, éste es absorbido en las células de la mucosa intestinal como un complejo intacto, influyendo poco la composición de la dieta y las secreciones gastrointestinales.

Sin embargo, el hierro no hemo que, generalmente se encuentra en forma insoluble, previamente deberá ser solubilizado. Para ello, se requiere un medio ácido, así como la presencia de ciertas proteínas capaces de romper la unión del hierro con sustancias con las que forma complejos insolubles (Mataix, 2005).

Existen diversos factores que influyen en la biodisponibilidad del hierro, algunos de ellos se mencionan a continuación:

- a) Factores que aumentan la absorción del hierro:
 - *Estado general de hierro en el organismo.* La deficiencia de hierro (anemia ferropénica) producida por diversas causas como baja ingesta, hemorragias o aumento de necesidades (crecimiento, mujeres en edad fértil y embarazo), incrementan la absorción de este micronutriente.

- *Presencia de vitamina C o ácido ascórbico.* Esta vitamina permite la solubilización del hierro y por lo tanto, su absorción.

b) Factores que disminuyen la absorción del hierro:

- *Medio alcalino.* Disminuye su solubilidad debido a que mantiene al hierro en su forma oxidada (férrica), la cual es menos absorbible.
- *Presencia de fitatos, oxalatos o taninos,* al formar complejos insolubles con el hierro.
- Determinados *micronutrientes* como zinc, manganeso, magnesio y cobre. La ingesta conjunta de alimentos ricos en dichos minerales en una misma comida puede llegar a impedir la absorción de hierro.
- *Fibra,* por la formación de complejos insolubles.

3.1.6 Transporte, almacenamiento y excreción

Cuando el hierro es absorbido por el intestino delgado, tiene lugar la síntesis de la *ferritina* y la incorporación de los átomos de hierro dentro de ella. Para utilizarlo en la síntesis de hemoproteínas, el hierro se va liberando paulatinamente de la ferritina y es transportado por el plasma sanguíneo en su forma férrica (Fe^{3+}) mediante una proteína específica llamada *transferrina*. La ferritina actúa como reserva en las células de la mucosa, estando implicada en el almacenamiento, mientras que la transferrina actúa como vehículo en el transporte de Fe^{3+} a los tejidos (Robinson, 1999).

Una vez que el hierro es absorbido, cantidades muy pequeñas (aproximadamente de 1 a 3 mg por día) son excretadas a través de la orina. En las heces la cantidad es superior pero una gran parte corresponde probablemente a hierro de la dieta no absorbido. El resto proviene de la bilis y de las células que presentan exfoliación en el epitelio gastrointestinal (Mahan, 2001).

3.1.7 Deficiencias

Carencia de hierro

La carencia de hierro, precursora de anemia ferropénica, es la más común de todas las enfermedades por deficiencia nutricional. Los grupos más vulnerables de padecer dicha enfermedad son los niños, adolescentes y mujeres en edad fértil (Fomon, 2001).

La deficiencia de este elemento puede deberse a lesiones, hemorragias o a enfermedades (por ej., pérdida de sangre consecutiva por lombrices intestinales o padecimientos gastrointestinales que interfieren en la absorción del elemento férrico).

Las manifestaciones de la carencia de hierro derivan de aquellas propias de la anemia y de otras no hematológicas causadas por una mala función de las enzimas hierro dependientes. Se han descrito alteraciones de la capacidad de trabajo físico y de la actividad motora espontánea, alteraciones de la inmunidad celular, mayor susceptibilidad a las infecciones especialmente del tracto respiratorio, alteraciones funcionales e histológicas del tubo digestivo, mayor riesgo de parto prematuro, disminución de la velocidad de crecimiento, alteraciones conductuales y del desarrollo mental y motor, entre otras (Lloyd, 1999).

Anemia ferropénica

La *anemia ferropénica* se caracteriza por eritrocitos pequeños y pálidos, así como la disminución de los niveles de hemoglobina en sangre. El factor causal es la depleción de los depósitos de hierro por una discrepancia entre los requerimientos y la ingesta.

La causa principal de anemia ferropénica en el adulto, se debe a la pérdida crónica de sangre, ya sea *fisiológica*, por ejemplo, la menstruación o embarazos

múltiples, o *patológica*, como las pérdidas gastrointestinales por ulceraciones o neoplasias.

Las alteraciones del tracto gastrointestinal o la diarrea crónica, también pueden producir anemia ferropénica por una alteración en el mecanismo de absorción del hierro (Kaufer, 2001).

Los síntomas de la anemia ferropénica son similares a los de las otras anemias, existe debilidad, cansancio y palidez. La piel, las mucosas y las uñas se tornan pálidas por la disminución de la hemoglobina circulante (Lloyd, 1999).

3.2 Calcio

3.2.1 Contenido en el organismo

El calcio es el micronutriente más abundante del organismo, representa alrededor del 1.5 al 2% del peso corporal y alrededor del 99% de este elemento se encuentra en los huesos y dientes. El 1% restante está en la sangre, en los líquidos extracelulares y dentro de las células de todos los tejidos, donde regula muchas funciones metabólicas importantes (Mahan, 2001).

3.2.2 Funciones

El calcio desempeña importantes funciones en el organismo:

- Constituyente de huesos y dientes junto con el fósforo y la vitamina D.
- Participa en la contracción muscular.
- Necesario para la transmisión del impulso nervioso.
- Interviene en la coagulación de la sangre.
- Mantiene la permeabilidad de las membranas celulares (Mataix, 2005).

3.2.3 Fuentes alimentarias

Las mejores fuentes de calcio son la leche y los productos lácteos. Además, existen otros alimentos como los cereales, las frutas y los vegetales de hoja verde (brócoli, coles, espinacas) que también contienen calcio. Entre los alimentos de origen animal también se encuentran buenas fuentes de calcio como es el caso de las sardinas, los crustáceos y los mariscos (Lloyd, 1999).

A continuación, se muestra el contenido de calcio de algunos alimentos:

Tabla 8. Contenido de calcio de algunos alimentos¹

Alimento	g Ca /100 g alimento (base seca)
Cebada	0.09
Maíz	0.04
Avena	0.10
Planta entera de alfalfa	2.38
Espinacas	1.00
Ejotes	0.56
Leche entera de vaca	0.91
Huevos sin cascara	0.19
Salmón enlatado	0.79

¹Lloyd, 1999.

3.2.4 Ingesta diaria recomendada (IDR)

El aporte recomendado de calcio para niños de edades entre 1 a 6 años es de 800 mg/día, mientras que para niños y púberes con edades entre 7 a 18 años asciende a 1000 mg. El consumo de calcio sugerido para adultos es de 800 mg al día, para mujeres embarazadas y lactantes es de 1200 mg al día (Muñoz, 2001).

3.2.5 Absorción

Aproximadamente de un 20 a un 40 por ciento del calcio consumido por un individuo es absorbido en el tracto gastrointestinal (principalmente en el duodeno, donde prevalece un pH ácido que favorece su solubilidad) y se incorpora a la sangre para ser utilizado. El resto es excretado en las heces.

La mayor o menor absorción dependerá de una serie de factores como:

a) Factores que aumentan la absorción de calcio:

- *Bajo nivel de calcio ingerido.* Cuando la ingesta de calcio en la dieta es baja, la cantidad absorbida aumenta.
- *Medio ácido.* El pH ácido facilita la solubilidad del calcio y con ello incrementa su absorción.
- *Estado general del calcio en el organismo.* Cuando aumenta la demanda de calcio por un incremento de las necesidades, aumenta la absorción. Esto ocurre durante el embarazo, lactancia y el crecimiento.
- *Presencia de lactosa y vitamina D.* Estimulan la absorción intestinal del calcio.
- *Presencia de algunas proteínas.* Pueden ligar calcio formando complejos que aumenten su absorción (p. ej. Calbindinas).

b) Factores que disminuyen la absorción de calcio:

- *Alto nivel de calcio ingerido.* Cuando la ingesta de calcio en la dieta es alta, la fracción de calcio absorbido disminuye.
- *Medio alcalino.* Posibilita la formación de sales insolubles de calcio (por ej. fosfato cálcico), las cuales son poco absorbibles.
- *Fibra, ácido oxálico y ácido fítico.* Dificultan la absorción de calcio de los alimentos, al formar complejos insolubles (Mataix, 2005).

3.2.6 Transporte y excreción

El calcio se absorbe por dos mecanismos: *transporte activo*, el cual opera predominantemente a concentraciones lumenales bajas de iones de calcio. Este mecanismo es saturable y es controlado por la hormona 1,25-dihidroxitamina D o vitamina D, la cual aumenta la captación de calcio en el borde en cepillo de la célula de la mucosa intestinal y estimula la producción de proteínas fijadoras de calcio (calbindinas). El segundo mecanismo (*transporte pasivo*), no es saturable, es independiente de la vitamina D, tiene lugar en toda la longitud del intestino delgado y funciona a concentraciones lumenales altas de los iones de calcio (Mahan, 2001).

En condiciones normales, únicamente el 30% del calcio ingerido de los alimentos es absorbido por el intestino, el 70% restante es excretado en las heces. Las pérdidas dérmicas de calcio se presentan a través del sudor y por la exfoliación de la piel.

3.2.7 Deficiencias

Raquitismo

El raquitismo aparece durante los periodos de crecimiento y desarrollo de los lactantes y en la niñez. La alteración principal se manifiesta en la composición de la sangre o de los líquidos que rodean el hueso, con una disminución del contenido de calcio.

Se debe a una falta de calcificación provocada por deficiencia de calcio y/o fósforo en la dieta, por una disminución de la capacidad de absorción de estos elementos y por la falta de vitamina D.

En el raquitismo se abultan las articulaciones y se arquean las costillas, apareciendo rigidez y cojera. La tensión sobre los huesos puede generar piernas arqueadas (Devlin, 2004).

Osteomalacia

La osteomalacia se manifiesta en los adultos. Es un estado en el que disminuye el contenido mineral del hueso, permaneciendo normal la cantidad de hueso del esqueleto.

Se presenta en individuos que tienen un balance mineral negativo prolongado, lo que puede deberse a una ingesta insuficiente de calcio, a un defecto en la absorción de este elemento, a un exceso de actividad del paratiroides, o a una demanda especial de minerales debida a la gestación o la lactación.

La osteomalacia se caracteriza por dolor, algunas veces grave, sobre todo en los huesos de la pelvis, la parte baja de la espalda y en las piernas. El paciente casi siempre camina con los pies muy separados. En la osteomalacia los huesos se debilitan gradualmente y las fracturas son frecuentes (Lloyd, 1999).

Osteoporosis

La osteoporosis es el tipo más común de enfermedad ósea que, a diferencia de la osteomalacia, supone una pérdida progresiva de la matriz ósea. La composición del hueso es la misma, pero la cantidad de hueso es menor.

Puede ser consecuencia de una enfermedad, de una deficiencia dietética (déficit de calcio fundamentalmente) u hormonal (falta de estrógenos) o por edad avanzada.

La osteoporosis es una enfermedad silente, no existiendo síntomas asociados con la enfermedad temprana. Sin embargo, en las fases avanzadas cursa con dolores de espalda y cuello, pérdida de estatura asociada con la edad, encorvamiento de la columna vertebral, e incluso las fracturas de vértebras, muñecas o cadera son relativamente frecuentes (Mataix, 2005).

Asimismo, la deficiencia de calcio produce desarrollo dentario deficiente, retardo en la coagulación sanguínea e irritabilidad de las fibras nerviosas que conduce a espasmo muscular.

4. Biodisponibilidad de micronutrientos

El concepto de biodisponibilidad se define como la eficiencia con la cual los nutrientes son utilizados por el organismo y depende de los procesos de digestión de los alimentos, absorción de los nutrientes y disponibilidad de los mismos para las funciones metabólicas (Trejo, 2006).

La biodisponibilidad ha llegado a ser un término de utilidad en los últimos años para describir el estado químico o fisicoquímico de los micronutrientos dentro de la luz intestinal (Mahan, 2001). Así pues, la biodisponibilidad de los micronutrientos está dada por tres etapas:

1. La digestibilidad y solubilidad del elemento mineral en el tracto gastrointestinal.
2. La absorción y transporte hacia circulación.
3. Su incorporación en una entidad funcional (Fairweather, 1992).

5. Contenido energético

La estimación del contenido energético en los alimentos o dietas es indispensable para estudios de metabolismo y balance de energía. Los nutrientes se requieren en primera instancia para aportar la energía necesaria en el mantenimiento normal de las funciones vitales, como son: tasa metabólica basal (TMB), termorregulación y acción dinámica específica (ADE), también denominada como termogénesis de los alimentos; además, deben suministrar la energía para la actividad física diaria (Bowman, 2003).

Los organismos vivos y específicamente el hombre, necesita energía para desempeñar sus actividades diarias aun estando en reposo absoluto como dormir. Así, los requerimientos energéticos deben cubrir las necesidades para mantener a un individuo sano para realizar su vida activa en forma normal.

Una forma práctica de obtener la densidad energética de un alimento o dieta, es utilizando el método directo con una bomba calorimétrica; sin embargo, hay que tomar en cuenta que este dispositivo determina la energía liberada por la oxidación completa del alimento, mientras que en el cuerpo humano se realiza la oxidación en forma incompleta, en especial para el caso de las proteínas, ya que parte del nitrógeno de las proteínas ingeridas es excretado como urea, ácido úrico y creatinina en la orina. Por lo tanto, se puede asumir que la energía determinada en la bomba calorimétrica, da el máximo potencial energético de un alimento (calor de combustión), que por convención se conoce como “Energía Gruesa (EG) o bruta” (Pérez, 1998).

El principio en el cual se basa la determinación de la densidad energética en la bomba calorimétrica, es en la primera ley de la Termodinámica, la cual indica lo siguiente: “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. En el caso de la bomba calorimétrica, hay una conversión de la energía química en la producción de energía térmica, la cual se detecta por el cambio en la temperatura.

Actualmente, existen dos tipos de bombas calorimétricas, la bomba calorimétrica adiabática y balística. La primera es recomendada para estudios finos que requieren exactitud, mientras que la balística es de uso práctico, ya que la determinación es relativamente rápida y sencilla (Pérez, 1998).

III. OBJETIVOS

i) General

Evaluar mediante métodos biológicos la calidad proteínica de la avena, su balance energético, así como la biodisponibilidad de hierro y calcio para la elaboración de una base de datos de consulta de los laboratorios pertenecientes al Departamento de Alimentos y Biotecnología.

ii) Específicos

- Determinar el contenido nutrimental de la avena mediante la realización del análisis bromatológico y la cuantificación de hierro y calcio presente en la misma.
- Determinar la calidad de la proteína de la avena a través de los métodos Relación de Eficiencia Proteínica (REP) y Relación Neta de la Proteína (RNP).
- Realizar un balance de hierro y calcio con la finalidad de evaluar la biodisponibilidad de estos dos micronutrientes.
- Evaluar la densidad energética tanto en las dietas de estudio, como en las heces recolectadas para llevar a cabo un balance energético.

IV. METODOLOGÍA

En la Figura 3 se muestra el diagrama general de investigación:

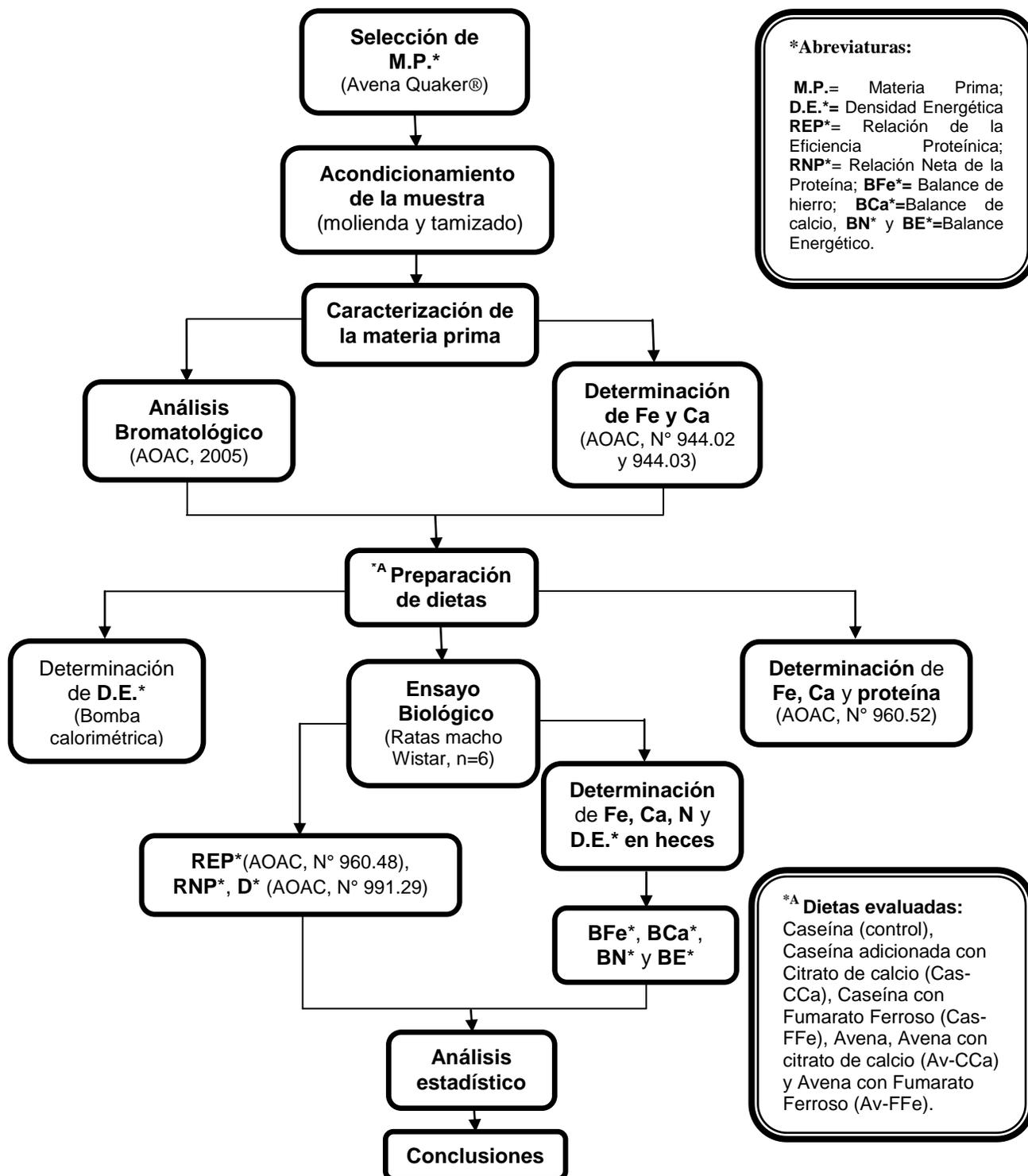


Figura 3. Diagrama general de investigación.

6. Selección y acondicionamiento de la muestra

La materia prima seleccionada para realizar los ensayos biológicos fue avena en forma de hojuelas de la marca comercial Quaker.

Las hojuelas del cereal fueron molidas utilizando un molino marca “Foss Tecator”, modelo 1093 y se tamizaron empleando tamices de malla número 20; posteriormente, la muestra fue homogeneizada y se procedió a realizar el correspondiente análisis bromatológico.

6.1 Análisis químicos

6.1.1 Análisis bromatológico

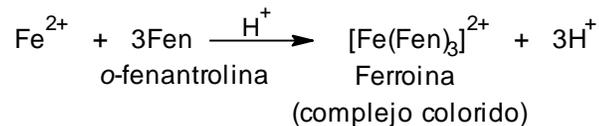
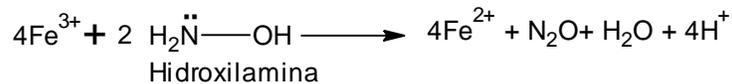
El análisis bromatológico de la avena se realizó por triplicado ($n=3$) siguiendo la metodología descrita por la AOAC, cuantificando *humedad* por el método de Spencer (N° 950.01), *cenizas* por el método de incineración (N° 923.03), *proteína cruda* por el método de microKjeldahl (N° 960.52), *grasa cruda* por el método de Goldfisch (N° 920.85) y *fibra cruda* a través del método gravimétrico de Henneberg (N° 920.86). Los hidratos de carbono se determinaron por diferencia con base en el esquema de Wende (AOAC, 2005).

6.1.2 Determinación de hierro

La cuantificación del hierro presente en las muestras evaluadas se llevó a cabo siguiendo el método N° 944.02 de la AOAC.

Fundamento

El hierro presente en los alimentos queda en 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 4 que absorbe a 530 nm.



Material, equipo y reactivos

- Crisoles de porcelana
- Desecador
- Pipetas graduadas de 1, 5 y 10 mL
- Matraz aforado de 50 mL
- Embudo de tallo corto
- Pinzas para crisol
- Mechero
- Parrilla de calentamiento “Labconco”, Mod. 61354
- Mufla “Thermolyne”, Type 1500 furnace
- Espectrofotómetro “Thermo scientific”, Geneys 10 UV
- Clorhidrato de hidroxilamina R.A.
- O-fenantrolina R.A.
- Acetato de sodio anhidro R.A.
- Ácido acético R.A.
- Ácido clorhídrico concentrado R.A.
- Sulfato de hierro y amonio hexahidratado R.A.

Preparación de reactivos

l) **Solución de clorhidrato de hidroxilamina:** disolver 10 g de la sal en agua destilada y llevar a un volumen de 100 mL.

II) **Solución buffer de acetatos, pH 4:** disolver 8.3 g de acetato de sodio anhidro y adicionar 12 mL de ácido acético concentrado. Aforar a 100 mL con agua destilada.

III) **Solución de o-fenantrolina:** disolver 0.1 g en 80 mL de agua destilada a 80°C, enfriar y aforar a 100 mL con agua destilada.

IV) **Solución estándar de hierro (0.01 mg/mL):** disolver 3.512 g de sulfato de hierro y amonio $[\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}]$; P.M. 392.14 g] en agua destilada adicionando previamente unas gotas de HCl y aforar a 500 mL. Se toman 10 mL de dicha solución y se llevan a 1 L con agua destilada.

Procedimiento

➤ Preparación de la muestra:

Se pesaron por triplicado 3 g de muestra molida en un crisol (a peso constante) y se obtuvieron las cenizas; para ello se incineró primero la muestra con mechero bajo campana de extracción y posteriormente, se calcinó en mufla a 550°C hasta que el peso fuera constante y el color de las cenizas resultara homogéneo.

Los crisoles se dejaron enfriar y se les adicionó a cada uno 2 mL de HCl concentrado para disolver las cenizas, posteriormente se calentaron en una parrilla hasta sequedad en la campana de extracción, dejándose enfriar nuevamente. A continuación se añadió 1 mL de HCl concentrado, seguido por 3.5 mL de agua destilada, tratando de disolver las cenizas en la mayor cantidad posible, utilizando para ello un agitador de vidrio.

Se trasladó cuantitativamente el líquido a un matraz aforado de 50 mL, lavándose el crisol con agua destilada por dos o tres veces más, pasando los líquidos del lavado al matraz. Posteriormente, se aforó y filtró.

Del filtrado se tomaron dos alícuotas de 10 mL y se adicionaron los reactivos en el siguiente orden: 1 mL de clorhidrato de hidroxilamina (solución I) agitándose; 5 mL de buffer de acetatos (solución II) y 1 mL de o-fenantrolina (solución III), se agitó nuevamente. Posteriormente, se dejó reposar la mezcla de reacción de 10 a 15 minutos. Finalmente, se llevó a cabo la lectura de la absorbancia en el

espectrofotómetro a 530 nm. Cuando el color de la mezcla de reacción fue más intenso que el último tubo de la curva estándar, se emplearon alícuotas más pequeñas completando el volumen a 10 mL con agua destilada, llevándose a cabo de nuevo la lectura de la absorbancia.

➤ Elaboración de la curva estándar:

Se tomaron 0.0, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 6.0 y 8.0 mL de la solución estándar de hierro (solución IV), ajustándose el volumen de cada uno de los tubos a 10 mL con agua destilada y adicionando los reactivos de manera similar al procedimiento anterior. Se dejó reposar de 10 a 15 minutos y se midió la absorbancia a 530 nm, empleando un blanco de reactivos (ver Anexo A).

Cálculos

i) Se interpoló la lectura de absorbancia de la muestra en la curva estándar para calcular la cantidad de hierro presente en la alícuota.

ii) 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 = mg de Fe/mL

A = Aforo de 50 mL

w = g de muestra

6.1.3 Determinación de calcio

La cuantificación del calcio presente en las muestras evaluadas se llevó a cabo siguiendo el método N° 944.03 de la AOAC.

Fundamento

La determinación de calcio se basa en la formación de un precipitado con oxalato de amonio, seguido por la disolución del precipitado con ácido sulfúrico (1 N) para finalmente realizar la valoración del oxalato de calcio empleando permanganato de potasio 0.01 N.

Material, equipo y reactivos

- Crisoles
- Olla de peltre
- Vasos de precipitado (100 mL)
- Pipetas graduadas (10 mL)
- Propipeta
- Matraces aforados (50 mL)
- Matraz kitasato con manguera
- Embudos de vidrio de filtro poroso
- Bureta de 50 mL
- Parrilla eléctrica "Labconco", Mod. 61354
- Mufla "Thermolyne", Type 1500 furnace
- HCl concentrado R.A.
- Oxalato de amonio (saturado) R.A.
- Hidróxido de amonio R.A.
- Indicador rojo de metilo
- Ácido sulfúrico (1 N) R.A.
- Permanganato de potasio (0.1 N) R.A.

Preparación de reactivos

I) **Oxalato de amonio saturado**: adicionar oxalato de amonio a 150 mL de agua destilada, en cantidad tal que éste ya no se disuelva en dicho volumen de agua (punto de saturación).

II) **Ácido sulfúrico (1 N)**: medir 125 mL de agua destilada y agregar cuidadosamente 5 mL de ácido sulfúrico concentrado, agitando en cada adición.

III) **Indicador rojo de metilo**: disolver 100 mg de rojo de metilo en 100 mL de metanol.

Procedimiento

Se calcinaron 3 g de muestra a 550° C hasta obtener cenizas blancas. Se humedecieron con 5 mL de HCl concentrado, evaporando hasta sequedad en parrilla eléctrica. Posteriormente, se humedeció el residuo con 5 mL de HCl concentrado, adicionándose 25 mL de agua destilada, calentando la mezcla hasta el inicio de ebullición y dejándose enfriar. En seguida, se procedió a filtrar recibiendo la solución en un matraz aforado de 50 mL, se lavó el vaso de precipitados para obtener los residuos y finalmente, se aforó el matraz (solución "A").

Se transfirieron 25 mL de la solución "A" a un vaso de precipitados de 100 mL, calentándose hasta llegar a ebullición. A continuación, se adicionaron 10 mL de solución saturada de oxalato de amonio y unas gotas de indicador rojo de metilo, para posteriormente añadir gota a gota una solución de hidróxido de amonio hasta llegar al punto de neutralización (vire color amarillo). Inmediatamente, se colocó la solución a ebullición con el fin de precipitar el oxalato de calcio. Una vez fría la solución, se adicionó HCl 0.01 N hasta obtener una coloración rosa (pH 5), y se dejó reposar durante toda la noche.

Al día siguiente, usando un filtro de vidrio poroso se procedió a lavar la solución con 50 mL de agua destilada caliente, desechándose las aguas del filtrado. Después de lavar perfectamente el matraz Kitasato, se procedió a realizar la filtración mediante lavados con 50 mL de H₂SO₄ caliente (1 N) hasta llevar a un

volumen de 100 mL, para inmediatamente realizar la titulación a una temperatura de 80° C, utilizando una solución de KMnO_4 0.1 N hasta obtener una coloración rosa permanente.

Cálculos

Para determinar el contenido de calcio presente en las muestras, se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{mg Ca}/100\text{gmuestra} = \frac{(\text{mL KMnO}_4)(2 \text{ mg Ca})(A)}{(1\text{mLKMnO}_4)(B)(1000)(w)} \times 100$$

Donde:

mg Ca /100 g muestra= miligramos de Ca contenidos en 100 gramos de muestra
mL KMnO_4 0.1 N= mililitros de permanganato de potasio gastados en la titulación
(1 mL de KMnO_4 0.1 N equivale a 2 mg de Ca)

A = aforo correspondiente a 50 mL

B = alícuota de 25 mL

w = peso de la muestra en gramos

6.1.4 Determinación de densidad energética

La densidad energética de las muestras se determinó utilizando una *bomba calorimétrica balística*.

Fundamento

El método se basa en la combustión por ignición eléctrica de una muestra de peso conocido en una atmósfera de oxígeno. La energía producida en forma de calor, se transmite al cilindro de la bomba, el cual a su vez se conecta a un detector del cambio de temperatura. El aumento producido en la temperatura después de la combustión de la muestra se compara con el cambio de temperatura que se produce con una cantidad conocida de ácido benzoico que es el estándar de referencia con contenido energético certificado.

Material, equipo y reactivos

- Desecador
- Crisol de acero inoxidable de 25.4 mm de diámetro
- Mango metálico compactador
- Mecha de algodón de 8 cm de longitud
- Balanza analítica “Sartorius”, Mod. A21OP
- Bomba calorimétrica balística “GALLENKAMP”, Mod. CBB-330-010L
- Tanque de oxígeno
- Ácido benzoico, contenido energético certificado: 26.47 ± 0.20 kJ/g, (Riedel-de Haën, N° Cat. 33045)

Procedimiento

- Preparación de los crisoles con muestra:

Cada muestra se colocó en crisoles metálicos especiales previamente tarados junto con sus correspondientes mechas de algodón, de tal manera que un extremo del hilo quedó dentro de la muestra pesada. El valor correspondió al peso preliminar (Pp), tratando de pesar un exceso aproximado de 10% del peso deseado. Se compactó la muestra utilizando el mango metálico, dejándose libre el otro extremo de la mecha, se pesó nuevamente para registrar el peso final (Pf).

- Combustión de la muestra:

Una vez que se tuvo el crisol con la muestra compactada, éste se colocó en la base superior del pilar central de la bomba y se introdujo con cuidado el otro extremo de la mecha de algodón en el alambre de ignición.

A continuación, se procedió a cerrar herméticamente el capuchón en la base de la bomba de combustión con ayuda del anillo metálico, revisando que el o-ring de neopreno se encontrase en posición adecuada. Una vez cerrado, se colocó el sensor del termopar en el orificio del capuchón.

Para permitir el paso del gas del tanque de oxígeno hacia el manómetro principal, se abrió la válvula de paso del cilindro de oxígeno, girando entre $\frac{1}{4}$ a $\frac{1}{2}$ la perilla hasta alcanzar una presión de 50 bars. A continuación, se abrió de nuevo la válvula hasta alcanzar una presión dentro de la bomba balística de 25 bars (1 bar = 0.987 atm) en aproximadamente 20 a 30 s. Una vez alcanzada la presión, se cerró la válvula de paso y se ajustó el indicador del galvanómetro a cero con ayuda primero del ajuste grueso y posteriormente, con el dispositivo de ajuste fino. Al mantenerse las condiciones anteriores por aproximadamente 10 s, se oprimió el botón de ignición para llevar a cabo la combustión, notándose ésta por un aumento en la presión del manómetro de la bomba, que a su vez se tradujo en una señal en la escala del galvanómetro. Se observó el movimiento del indicador en el galvanómetro, una vez alcanzado el valor máximo, éste empezó a decaer rápidamente. La lectura máxima obtenida en el galvanómetro fue directamente proporcional al calor liberado en la combustión.

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

➤ Elaboración de la curva estándar:

Para la elaboración de la curva estándar de ácido benzoico se realizó la combustión a diferentes pesos (entre 0.1 y 0.8 g), anotándose la respectiva lectura obtenida en la escala del galvanómetro. También, se llevó a cabo la combustión exclusiva de la mecha de algodón, para corregir los datos obtenidos.

Una vez obtenidas las lecturas, se convirtieron los gramos de ácido benzoico en kJ, utilizando el siguiente factor de conversión:

$$1 \text{ g de ácido benzoico} = 26.45 \text{ kJ}$$

Con los datos anteriores, se trazó la curva de calibración de contenido energético en kJ (abcisas) vs la lectura del galvanómetro (ordenadas) y se obtuvo por interpolación la densidad energética de la muestra en el crisol.

Nota: En el Anexo B, se muestra la curva de calibración de ácido benzoico.

Cálculos

La densidad energética o energía gruesa (EG) de la muestra se calculó con la siguiente fórmula:

$$\text{kJ}/100\text{gmuestra} = \frac{L \times 100}{w}$$

Donde:

kJ / 100 g muestra= densidad energética por 100 g de muestra

L= lectura del galvanómetro expresada en kJ

w= peso de la muestra expresada en gramos

6.2 Análisis biológicos

6.2.1 Determinación de la Relación de Eficiencia Proteínica ajustada (REP_a)

La determinación de la Relación de Eficiencia Proteínica se llevó a cabo siguiendo el método N° 960.48 de la AOAC.

Fundamento

El grado de crecimiento de un animal bajo condiciones bien definidas, provee la información para evaluar la calidad nutritiva de una proteína, ya que si ésta tiene una deficiencia en uno o más aminoácidos indispensables, el crecimiento del animal se verá reducido al compararse con una proteína patrón utilizada al mismo tiempo que la que está en prueba.

Para que el método de la REP tenga reproducibilidad es necesario que la dieta de prueba tenga la misma concentración de proteína que la dieta de referencia, y su aporte debe ajustarse a las necesidades mínimas del organismo y a la eficiencia en su utilización para garantizar que se aprovechará en su totalidad, confirmándose experimentalmente que un nivel de 10% de proteína es el aconsejable; es decir, que la dieta sea isoproteínica e isoenergética a la dieta de referencia, además debe contener todos los nutrimentos requeridos como hidratos de carbono, ácidos grasos, vitaminas y minerales. Con esto, la única variable será la calidad de la proteína del alimento en estudio.

Material y materias primas

- Jaulas individuales de acero inoxidable
- Comederos y bebederos
- Balanza granataria para pesar animales de laboratorio “OHAUS”, Mod. 2729439
- Balanza granataria para pesar dietas “OHAUS”, Mod. 2729439
- Papel manila (un pliego)
- Cernidor (de 2 ± 0.5 mm de abertura)
- Franela o un trapo limpio
- Dieta de referencia (caseína)
- Dieta(s) de la fuente de proteína a evaluar (isoproteínica e isoenergética con respecto a la dieta de referencia)

Procedimiento

Selección y distribución de los animales

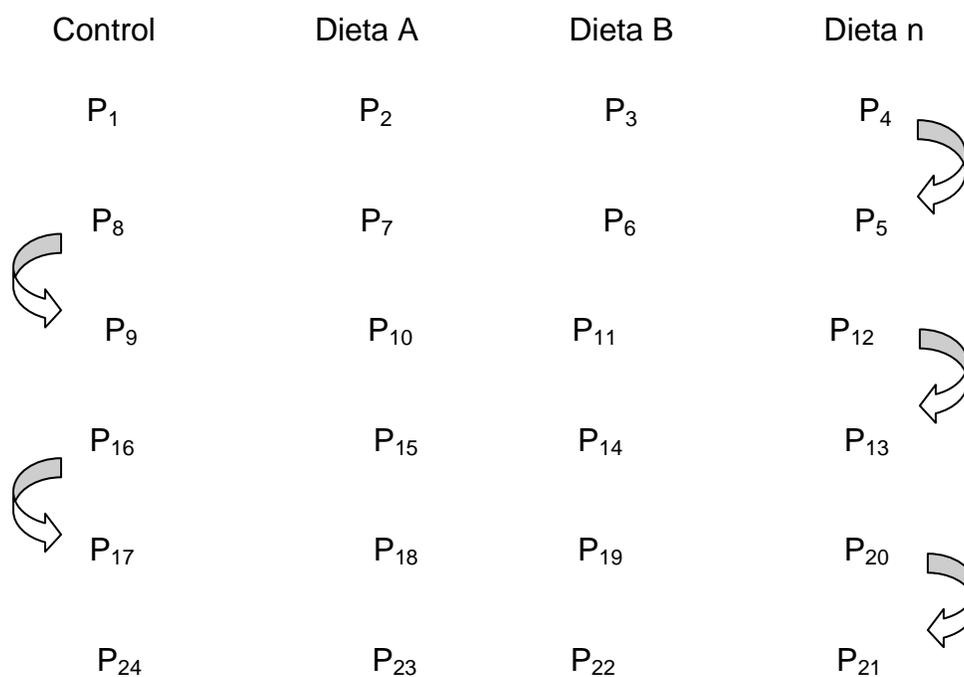
Para los ensayos biológicos de REP_a, RNP_a y D_a, se utilizaron seis ejemplares de ratas macho Wistar por cada dieta evaluada, con una edad de 21 a 23 días de nacidos (recién destetadas).

La duración del ensayo de la REP fue de 28 días y los animales de experimentación se mantuvieron con agua y alimento *ad libitum*, bajo condiciones de 12 horas de iluminación por 12 horas de oscuridad, con una temperatura ambiental de 23 a 24 °C y una humedad relativa entre 30 y 35 % (AOAC, 2005).

Los ejemplares fueron pesados y a su vez ordenados de forma ascendente:

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

Posteriormente, los animales se colocaron en las jaulas individuales del rack, siguiendo la distribución de “culebra japonesa” como se indica a continuación:



Debido a que las ratas al alimentarse tienden a desperdiciar alimento, se colocaron charolas elaboradas con papel manila debajo de cada jaula con la finalidad de recuperar el alimento, haciendo la separación correspondiente de las heces, utilizando para ello un cernidor.

El peso de los animales fue registrado cada tercer día, durante los 28 días que duró el experimento (ver Anexo G), asimismo se llevó a cabo la determinación del

alimento ingerido por diferencia de peso entre el alimento suministrado y el alimento no consumido.

Cálculos

El valor de REP se calculó con base en la siguiente ecuación:

$$REP = \frac{\Delta P}{\Sigma AI \times F}$$

Donde:

ΔP = incremento de peso con la dieta de prueba (g)

ΣAI = alimento ingerido en el periodo de 28 días (g)

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

Ya que los métodos biológicos con mucha frecuencia presentan variaciones interlaboratorio, en algunas investigaciones se ha sugerido expresar el valor de la REP en términos de Relación de Eficiencia Proteínica ajustada o corregida (REP_a); para lo cual, fue necesario contar con el valor experimental de REP del lote de animales alimentados con la dieta de caseína (referencia). Es importante señalar que le fue asignado un valor estandarizado de REP de 2.5 a la proteína de referencia.

$$REP_a = REP_{(prueba)} \frac{REP(Caseína)_{STD}}{REP(Caseína)_{EXP}}$$

Donde:

$REP_{(prueba)}$ = REP experimental de la proteína a evaluar

$REP(Caseína)_{STD}$ = REP de caseína estandarizado = 2.5

$REP(Caseína)_{EXP}$ = REP de caseína obtenido en el experimento

6.2.2 Determinación de la Relación Neta de la Proteína ajustada (RNP_a)

El ensayo biológico de la Relación Neta de la Proteína se efectuó siguiendo la metodología de la AOAC.

Fundamento

El método RNP se basa en la determinación de la cantidad de peso corporal que se perdería si el animal de experimentación no ingiriera proteína durante el periodo de ensayo, ya que antes de que se genere el incremento de peso corporal, la proteína por ensayar debe cubrir las necesidades proteínicas de mantenimiento.

Procedimiento

El método de RNP se efectuó a la par de la REP, sin embargo la duración del ensayo en este caso fue de 10 días. Debido al estrés que causa la dieta libre de nitrógeno (DLN), el Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales de Experimentación (CICUAL) sugiere no incluir dicha dieta en los bioensayos. En razón de lo anterior, en lugar de alimentar a un lote de ratas con DLN se realizó una predicción de la pérdida de peso corporal utilizando el siguiente modelo de ajuste (Venegas, 2011):

$$y = -0.114(x) - 1.461$$

Donde:

$y = \Delta P_{(DLN)}$ = Decremento de peso con la DLN (g)

x = Promedio de los pesos de las ratas que conforman a un lote (g)

Cálculos

El valor de RNP se calculó utilizando la siguiente ecuación:

$$RNP = \frac{\Delta P_{(prueba)} - \Delta P_{(DLN)}}{\Sigma AI \times F}$$

Donde:

$\Delta P_{(prueba)}$ = Incremento de peso con la dieta de prueba (g)

$\Delta P_{(DLN)}$ = Decremento de peso con la DLN (g)

ΣAI = Alimento ingerido en el periodo de 10 días (g)

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

Cabe mencionar, que los valores de RNP fueron reportados en términos de RNP ajustado (RNP_a), por lo que se tomó en cuenta el valor de RNP de 4.1 (asignado a la proteína de referencia) para realizar los cálculos empleando la siguiente fórmula:

$$RNP_a = (RNP_{prueba}) \frac{RNP_{caseína(STD)}}{RNP_{caseína(EXP)}}$$

Donde:

RNP_a = Relación de Eficiencia Proteínica ajustada

RNP_{prueba} = valor de RNP experimental de la proteína a evaluar

$RNP_{caseína(STD)}$ = RNP de caseína estandarizado = 4.1

$RNP_{caseína(EXP)}$ = RNP de caseína experimental

Los valores obtenidos a partir de los ensayos biológicos de REP y RNP, fueron tratados mediante análisis de varianza de una sola vía, con nivel de significancia de 0.05%.

6.2.3 Determinación de Digestibilidad aparente (D_a)

Fundamento

La determinación de digestibilidad (D_a) se basa en la medición del nitrógeno presente en la dieta de estudio, así como en la del nitrógeno excretado en las heces, para determinar por diferencia, la cantidad asimilada por los organismos de experimentación.

La digestibilidad es un indicador inicial de la calidad nutritiva de un alimento y se define *como la disponibilidad de los aminoácidos constituyentes de la proteína para ser absorbidos por el organismo de prueba.*

Material, equipo y reactivos

- Frascos de vidrio de boca ancha con tapa de aproximadamente 200 mL
- Cernidor con malla N° 8 ó equivalente
- Mortero con pistilo
- Balanza analítica “Sartorius”, Mod. A21OP
- Tubo micro-Kjeldahl para digestión “Buchi”
- Equipo de digestión para micro-Kjeldahl. “Tecator Kjelttec Auto Analyzer”
- Ácido sulfúrico concentrado R.A.
- Sulfato de sodio o potasio R.A.
- Sulfato de cobre pentahidratado R.A.
- Ácido *o*-fosfórico R.A.
- Fenolftaleína R.A.
- Etanol R.A.
- Verde de bromocresol R.A.
- Rojo de metilo R.A.
- Agua oxigenada al 30%
- Ácido bórico R.A.
- Hidróxido de sodio R.A.
- Ácido clorhídrico 0.01N (valorado)

Procedimiento

La determinación de la digestibilidad aparente (D_a) se llevó a cabo empleando los organismos de experimentación utilizados en los ensayos biológicos de REP_a y RNP_a . Para ello, se recolectaron las heces de los animales seleccionados de cada lote a partir de la última semana de experimentación, registrándose el peso total de las heces de cada animal en el periodo indicado. Posteriormente, las heces fueron molidas hasta obtener una muestra lo más homogénea posible.

A partir de las heces molidas de cada lote, se tomó una muestra representativa del total, a la cual se le determinó la cantidad de nitrógeno por el método N° 960.52 reportado por la AOAC. Asimismo, se cuantificó el contenido de nitrógeno presente en las dietas para considerar el nitrógeno ingerido (NI) durante el mismo periodo (última semana de experimentación) y de esta manera conocer la D_a de la proteína evaluada.

Nota: La colecta de heces se realizó durante la última semana del ensayo biológico de la REP_a , para ello se recolectaron y pesaron las heces de tres ratas por cada lote, teniendo de esta manera dos pool de tres ratas por cada dieta evaluada. A dichas heces se les determinó por triplicado el contenido de nitrógeno, hierro, calcio y densidad energética con la finalidad de utilizar dichos valores en los cálculos de los balances correspondientes.

Cálculos

Una vez que se determinó la cantidad de nitrógeno de la dieta y de las heces de cada lote, así como el valor respectivo del total de las heces pesadas, se calculó el contenido de nitrógeno ingerido (NI) y el nitrógeno fecal (NF) de cada lote de acuerdo a las siguientes fórmulas:

$$NI = \frac{\% N_{Dieta} \times Dieta\ ingerida}{100}$$

$$NF = \frac{\% N_{Heces} \times Total\ de\ heces}{100}$$

Donde:

NI = nitrógeno ingerido de la dieta (g)

% N_{Dieta} = contenido de nitrógeno de la dieta (%)

Dieta ingerida = cantidad de dieta ingerida en la última semana de experimentación (g)

NF = nitrógeno excretado en heces (g)

% N_{Heces} = contenido de nitrógeno en heces (%)

Total de heces = peso total de las heces recolectadas en la última semana de experimentación (g)

La D_a de las proteínas evaluadas fue calculada con base en la siguiente ecuación:

$$D_a = \frac{N_{absorbido}}{N_{ingerido}} \times 100$$

$$D_a = \frac{NI - NF}{NI} \times 100$$

Donde:

D_a = Digestibilidad aparente de la proteína evaluada (%)

N_{absorbido} = nitrógeno ingerido menos nitrógeno fecal (g)

N_{ingerido} = NI = cantidad de nitrógeno ingerido de la dieta (g)

NF = cantidad de nitrógeno excretado en heces (g)

6.2.4 Preparación de dietas

Para evaluar la calidad de la proteína con base en los ensayos biológicos de la Relación de Eficiencia Proteínica (REP), Relación Neta de la Proteína (RNP) y Digestibilidad aparente (D_a), se elaboraron seis dietas isoenergéticas (430

kcal/100 g dieta) e isoproteínicas (10 g proteína/100 g dieta), las cuales fueron: caseína como patrón de referencia, caseína adicionada con citrato de calcio (Cas-CCa), caseína adicionada con fumarato ferroso (Cas-FFe), avena, avena adicionada con citrato de calcio (Av-CCa) y avena adicionada con fumarato ferroso (Av-FFe). La cantidad adicionada a las dietas correspondientes de fumarato ferroso (Ferval®) y de citrato de calcio (Citracal®) fue de 0.04% y 0.15%, respectivamente, cabe mencionar que dichas cantidades fueron seleccionadas debido a que éstas cubrían los requerimientos nutricionales de los organismos de experimentación.

Material y materias primas

- Frasco de plástico de boca ancha con capacidad para 2 kg
- Coladera de metal
- Balanza granataria “Sartorius”
- Charolas de plástico
- Caseína (MP. Biomedicals, LLC. N° Cat. 901293)
- Avena en hojuelas (Quaker®)
- Sacarosa
- Glucosa
- Dextrina (Maizena®)
- Aceite de maíz
- Manteca vegetal
- 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)

Procedimiento

Una vez que se realizó el análisis bromatológico del cereal, se hicieron los cálculos necesarios para la elaboración de las dietas (Anexo F). Para ello, primero

fueron pesados los ingredientes sólidos, excepto las vitaminas, mezclándose entre sí hasta que quedasen perfectamente incorporados. Posteriormente, se adicionó la manteca seguida del aceite, mezclando todo nuevamente. Finalmente, se incorporó la mezcla de vitaminas hasta que la dieta quedó completamente homogénea.

En la Tabla 9 se muestran las formulaciones finales de las dietas a base de caseína y de avena:

Tabla 9. Formulación de las dietas evaluadas

Dietas	Caseína* g/100 g dieta	Cas-CCa* g/100 g dieta	Cas-FFe* g/100 g dieta	Avena* g/100 g dieta	Av-CCa* g/100 g dieta	Av-FFe* g/100 g dieta
Materia prima						
Caseína (83% proteína)	12.00	12.00	12.00	-	-	-
Avena (12% proteína)	-	-	-	87.26	87.26	87.26
Sacarosa	22.00	22.0	22.0	1.75	1.75	1.75
Glucosa	19.00	19.0	19.0	1.51	1.51	1.51
Dextrina	25.00	25.00	25.00	1.98	1.98	1.98
Manteca vegetal	8.00	8.00	8.00	4.61	4.61	4.61
Aceite de maíz	6.00	6.00	6.00	3.46	3.46	3.46
Mezcla de sales	2.00	2.00	2.00	0.56	0.56	0.56
Vitaminas (mezcla)	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Colina (soln. al 50%)	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40
Fumarato ferroso	-	-	0.04	-	-	0.04
Citrato de calcio	-	0.15	-	-	0.15	-

* Las dietas elaboradas fueron almacenadas en envases de plástico con tapa y mantenidas en refrigeración a 4°C.

Nota: A todas las dietas se les determinó el contenido de nitrógeno, hierro, calcio y densidad energética con la finalidad de emplear dichos valores en los cálculos de los balances correspondientes.

6.3 Balance de nutrimentos inorgánicos y de energía

6.3.1 Determinación de biodisponibilidad de hierro

La determinación de la biodisponibilidad de hierro se realizó cuantificando el contenido de dicho micronutriente en las dietas evaluadas, así como el excretado en las heces de los animales de estudio. Para ello, se calculó la cantidad de hierro ingerido por los animales de experimentación (durante la última semana de ensayo), tomando en cuenta la cantidad de alimento consumido durante dicho periodo. Por otro lado, se consideró la cantidad de hierro excretado en esa misma semana y este valor fue restado a la cantidad de hierro ingerido para poder establecer el balance de dicho micronutriente.

Cálculos

El porcentaje de hierro absorbido se determinó con base en la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Fe absorbido} = \frac{\text{Fe}_I - \text{Fe}_H}{\text{Fe}_I} \times 100$$

Donde:

% Fe absorbido= porcentaje de hierro absorbido

Fe_I = mg de hierro ingerido a partir de las dietas

Fe_H = mg de hierro excretado en heces

6.3.2 Determinación de biodisponibilidad de calcio

La determinación de la biodisponibilidad de calcio se realizó de manera similar a la de hierro, es decir, se realizó un balance del contenido de dicho mineral. Para ello, se cuantificó el calcio presente en las dietas de estudio, así como el excretado en las heces. Además, se calculó la cantidad de calcio ingerido por los animales de experimentación (durante la última semana de ensayo), tomando en cuenta la cantidad de alimento consumido durante dicho periodo. Por otro lado, se consideró la cantidad de heces excretadas en esa misma semana, para conocer la cantidad de calcio fecal. Dicho valor (calcio en heces) le fue restado a la cantidad de calcio

ingerido y con ello se logró establecer el balance de calcio.

Cálculos

El porcentaje de calcio absorbido fue calculado con base en la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Ca absorbido} = \frac{\text{Ca}_I - \text{Ca}_H}{\text{Ca}_I} \times 100$$

Donde:

% Ca absorbido= porcentaje de calcio absorbido

Ca_I = mg de calcio ingerido de las dietas

Ca_H = mg de calcio excretado en heces

6.3.3 Balance energético

El balance energético se realizó cuantificando la densidad energética de las dietas de estudio, así como la excretada en las heces. Para ello, se realizaron los cálculos necesarios para conocer la cantidad de energía ingerida por los animales de experimentación (última semana de ensayo), considerando la cantidad de alimento consumido durante dicho periodo. Por otro lado, se tomó en cuenta la cantidad de heces excretadas en esa misma semana, para conocer la cantidad de energía liberada, restando dicho valor a la cantidad de energía ingerida y con ello se determinó el balance energético.

Cálculos

El porcentaje de energía absorbida fue calculado utilizando la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Energía absorbida} = \frac{E_I - E_F}{E_I} \times 100$$

Donde:

% Energía absorbida= porcentaje de energía absorbida

E_I = cantidad de energía ingerida de las dietas, expresado en kJ

E_F = cantidad de energía excretada en heces, expresado en kJ

Mientras que los valores de Energía Digerible (ED) se calcularon con la siguiente ecuación:

$$\% ED = \frac{E_I - E_F}{A_I}$$

Donde:

ED= Energía Digerible expresada en kJ/g

E_I = Energía ingerida expresada en kJ (considerando la última semana de ensayo)

E_F = Energía fecal expresada en kJ (considerando la última semana de ensayo)

A_I = Alimento ingerido expresado en gramos (considerando la última semana de ensayo)

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7. Determinación del análisis bromatológico de la avena y su contenido de hierro y calcio.

Los resultados obtenidos a partir del análisis bromatológico realizado a la avena se muestran en la Tabla 10, en donde se observa que los valores experimentales referentes a proteína, cenizas e hidratos de carbono resultaron ser semejantes a los reportados en la literatura (Muñoz, 2001). Cabe mencionar que el contenido de proteína de la avena es alto (13.02 %) a pesar de ser un cereal, ya que al compararlo contra la cantidad de proteína que posee el maíz (8.7 %), claramente se puede observar que el contenido proteínico de la avena supera dicho valor. Este parámetro fue una de las razones por la cual se decidió emplear a la avena como materia prima para la realización de los ensayos biológicos.

Por otra parte, de acuerdo al contenido de grasa cruda obtenida experimentalmente (7.12 g/100 g muestra), éste valor resultó ser similar al reportado en la literatura (6.72 g /100 g muestra), asimismo, para el caso de la fibra cruda el valor encontrado fue semejante (6.24 g/100 g muestra) al reportado teóricamente (7.04 g /100 g muestra). Las mínimas diferencias encontradas, tanto para grasa como para fibra cruda pudieron deberse a que la materia prima empleada para el análisis teórico perteneciera a otra variedad de avena.

Al comparar la cantidad de hierro determinado experimentalmente (1.75 mg/100 g muestra) contra el valor teórico (4.20 mg/100 g muestra), se observó que el valor experimental resultó ser menor al teórico, debido probablemente a que se desconoce si pertenecen a la misma variedad de avena. Sin embargo, al comparar el valor experimental de hierro contra el reportado en la etiqueta de la avena de marca comercial (1.80 mg Fe/100 g muestra), se encontró que la cantidad de hierro cuantificada fue prácticamente la misma, lo cual indica que la determinación de hierro se llevó a cabo de manera adecuada.

Tabla 10. Análisis bromatológico de la avena evaluada y su contenido de Fe y Ca¹

Componente	g / 100 g de muestra (base húmeda) <i>Valor experimental</i>	g / 100 g de muestra (base seca) <i>Valor experimental</i>	g / 100 g de muestra (base seca) <i>Valor teórico</i>	g / 100 g de muestra <i>Valor reportado en Etiqueta</i>
Humedad (AOAC, N° 950.01)	4.48 ±0.12	-	-	-
Proteína (AOAC, N° 960.52)	11.46 ±0.26	12.00 ±0.26	13.02	13.75
Grasa cruda (AOAC, N° 920.85)	6.80 ±0.08	7.12 ±0.08	6.72	6.75
Fibra cruda (AOAC, N° 920.86)	5.96 ±0.04	6.24 ±0.04	7.04	6.50
Cenizas (AOAC, N° 923.03)	1.66 ±0.01	1.74 ±0.01	1.70	-
Hidratos de carbono (por diferencia)	69.64 ±0.26	72.90 ±0.26	71.50	68.25
Micronutriente	mg / 100 g de muestra (base húmeda) <i>Valor experimental</i>	mg / 100 g de muestra (base seca) <i>Valor experimental</i>	mg / 100 g de muestra (base seca) <i>Valor teórico</i>	mg / 100 g de muestra (base seca) <i>Valor de Etiqueta</i>
Hierro (AOAC, N° 944.02)	1.67 ±0.02	1.75 ±0.02	4.20	1.80
Calcio (AOAC, N° 944.03)	40 ±0.05	42 ±0.05	52	-

¹ Análisis realizado por triplicado. Promedio ± Desviación estándar (D.E.), C.V. < 6%.

² Muñoz, 2001.

Con base en el contenido de calcio determinado experimentalmente (42 mg/100 g muestra) y el valor teórico (52 mg/100 g muestra) se encontró una diferencia de 10 mg, lo cual pudo deberse a que se desconoce si pertenecen a la misma variedad de avena o a que la técnica empleada para cuantificar dicho micronutriente no fue la idónea, por lo que para futuros estudios se sugiere que se realice la cuantificación con métodos más precisos y exactos.

Por otro lado, considerando que uno de los objetivos del presente estudio fue la elaboración de una base de datos de fácil acceso, referente a valores de biodisponibilidad de hierro y calcio, se propuso adicionar a las dietas correspondientes fumarato ferroso y citrato de calcio (Cas-FFe, Av-FFe, Cas-CCa y Av-CCa, respectivamente), ya que estas sales son frecuentemente empleadas

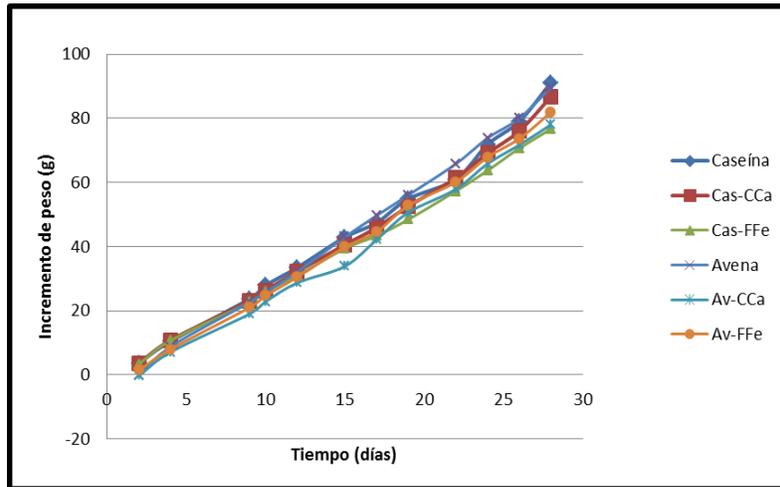
en la fortificación de alimentos. Sin embargo, dicho objetivo no pudo cumplirse debido a que al adicionar las sales en cantidad tal que cubriera las necesidades de hierro y calcio de los organismos de experimentación, no se tomó en cuenta el aporte de dichos micronutrientos por parte de la avena y de la mezcla de minerales, por lo que al final, las dietas sobrepasaron los requerimientos de hierro y calcio de los individuos y por esta razón los valores de biodisponibilidad obtenidos no fueron del todo confiables.

Con base en lo anterior, se sugiere que para experimentos posteriores se adicionen las sales en una cantidad menor al requerimiento y se utilice una mezcla de minerales que no contenga los micronutrientos a evaluar o que los posea en cantidades por debajo de los requerimientos de los individuos. Además, se deberá considerar el aporte de hierro y calcio contenidos en la fuente de proteína para que las dietas cubran los requerimientos nutricionales de los animales de experimentación y no se tenga un exceso de micronutrientos que afecte la biodisponibilidad de los mismos, ya que si la cantidad de micronutriente presente en la dieta es alta, la biodisponibilidad será baja (Mataix, 2005).

8. *Curvas de crecimiento*

En el Gráfico 2, se muestran las curvas de crecimiento obtenidas durante los ensayos biológicos de Relación de Eficiencia Proteínica (REP) y Relación Neta de la Proteína (RNP). Con base en ellas, se puede observar que el incremento de peso de los organismos alimentados con las dietas a base de caseína y avena fue prácticamente constante a lo largo de la experimentación, lo cual indica que el ensayo se realizó bajo condiciones adecuadas. Este mismo comportamiento se observó para el caso de las dietas Cas-CCa, Av-CCa, Cas-FFe y Av-FFe, sin embargo, los animales alimentados con dichas dietas presentaron un incremento de peso ligeramente menor al encontrado con las dietas libres de sales, esto pudo deberse a que los individuos consumieron en promedio una menor cantidad de alimento lo cual se vio reflejado directamente en su crecimiento.

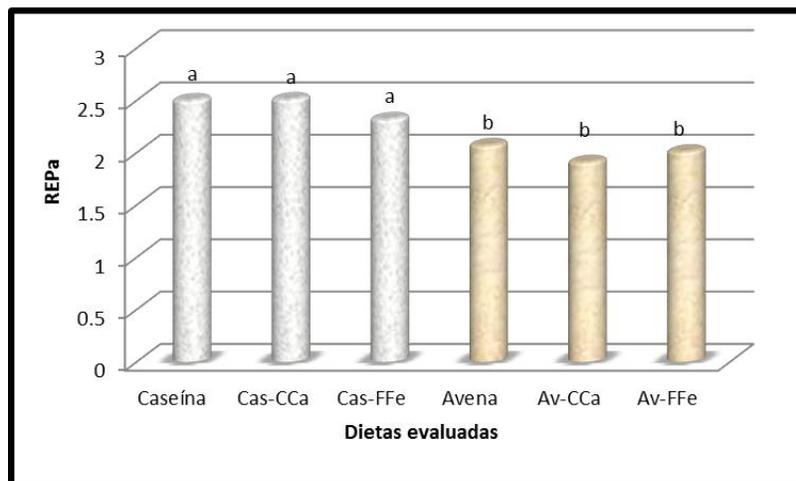
Gráfico 2. Curvas de crecimiento correspondientes a las dietas evaluadas



9. Determinación de la Relación de Eficiencia Proteínica ajustada (REP_a) y de la Relación Neta de la Proteína ajustada (RNP_a).

Respecto a los resultados obtenidos a partir de los ensayos biológicos de Relación de Eficiencia Proteínica ajustada (REP_a) y de Relación Neta de la Proteína ajustada (RNP_a), éstos se muestran en los Gráficos 3 y 4.

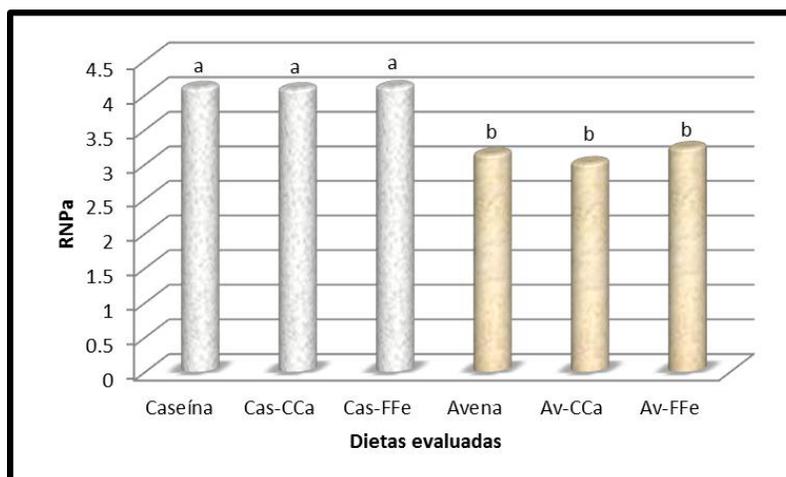
Gráfico 3. Valores de REP_a de las dietas evaluadas¹



¹Análisis de REP_a , $n=6$, valor promedio.

Letras distintas entre columnas indican diferencia significativa entre medias, $\alpha=0.05$

Gráfico 4. Valores de RNP_a de las dietas evaluadas¹



¹Análisis de RNP_a , $n=6$, valor promedio.

Letras distintas entre columnas indican diferencia significativa entre medias, $\alpha=0.05$

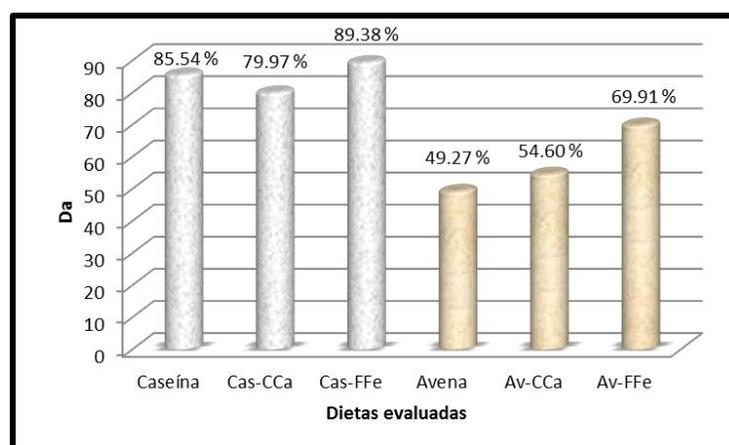
En relación al análisis estadístico aplicado a los valores de REP_a obtenidos de las dietas de caseína, Cas-CCa y Cas-FFe (2.50, 2.51 y 2.32, respectivamente), no se encontró diferencia significativa, lo cual era de esperarse puesto que la fuente de proteína era la misma (caseína) y la única variación que existía entre esas dietas fue la adición de las sales fumarato ferroso y citrato de calcio. Asimismo, tampoco se encontró diferencia significativa para el caso de los valores de RNP_a obtenidos a partir de dichas dietas (4.10, 4.08 y 4.11, respectivamente), lo cual sugiere que el estudio se llevó a cabo bajo condiciones adecuadas y que los valores obtenidos resultaron confiables para la elaboración de la base de datos de los laboratorios del departamento de Alimentos y Biotecnología de la Facultad de Química, ya que éstos son semejantes a los valores de REP (2.5) y RNP (4.1) reportados para caseína en la literatura. En cuanto a los valores de REP_a obtenidos de las dietas de avena (2.07), Av-CCa (1.91) y Av-FFe (2.01), no se encontró diferencia significativa entre los grupos, al igual que en los valores de RNP_a generados por esas mismas dietas (3.14, 3.01 y 3.23, respectivamente). Dicho comportamiento también era de esperarse, ya que la fuente de proteína era la misma y la única variación que existía entre las dietas de avena fue la adición de las sales correspondientes.

Por otro lado, al comparar los valores de REP_a obtenidos a partir de las dietas de caseína, Cas-CCa y Cas-FFe (2.50, 2.51, 2.32, respectivamente), contra cada uno de los valores de REP_a de las dietas de avena, Av-CCa y Av-FFe (2.07, 1.91, 2.01, respectivamente), se encontró diferencia significativa, lo cual era de esperarse, puesto que la calidad proteínica de la dieta de referencia es mayor que la del cereal en estudio. De igual forma, se encontró diferencia significativa entre los valores de RNP_a de las dietas a base de caseína (4.10, 4.08 y 4.11, respectivamente) y los de las dietas a base de avena (3.14, 3.01 y 3.23, respectivamente), por lo que con ello se confirmó que la proteína de la avena es de calidad media (Venegas, 2011).

10. Determinación de Digestibilidad aparente (D_a)

Los valores promedio de digestibilidad aparente (D_a) obtenidos a partir de las dietas evaluadas se presentan en el Gráfico 5, mientras que los valores de nitrógeno ingerido y excretado correspondientes a cada pool se muestran en el Anexo C.

Gráfico 5. Valores de D_a de las dietas evaluadas¹



¹ D_a . Se realizó una determinación por cada pool de heces provenientes de tres ratas, obteniéndose dos valores de D_a por cada lote. Valor promedio.

Con base en los porcentajes de digestibilidad aparente que se obtuvieron de las dietas de caseína (85.54%) y Cas-CCa (79.97%), se puede decir que los organismos alimentados con la dieta de referencia absorbieron aparentemente una mayor cantidad de aminoácidos que los que consumieron la dieta de Cas-CCa. Sin embargo, debido a que en el presente estudio únicamente se obtuvieron dos valores de digestibilidad aparente por cada lote, se sugiere que para ensayos posteriores se realice la determinación por cada individuo, para compensar parte de la variabilidad intraespecie y a su vez obtener las réplicas necesarias para concluir si la diferencia encontrada entre los valores de D_a es significativa.

Por otra parte, al comparar los valores de D_a obtenidos de las dietas de caseína y Cas-FFe (85.54 y 89.38%, respectivamente), se puede observar que los individuos alimentados con dichas dietas aparentemente absorbieron una cantidad similar de aminoácidos, lo cual era de esperarse puesto que la fuente de proteína era la misma y la única variación que existía entre ellas fue la adición de la sal ferrosa.

En cambio, al comparar la digestibilidad aparente generada por la dieta de Cas-CCa (79.97%) y la de Cas-FFe (89.38%), se observó que los animales de experimentación aparentemente absorbieron una mayor proporción de aminoácidos a partir de esta última dieta. La diferencia encontrada pudo deberse a la cantidad de alimento ingerido, ya que los organismos que fueron alimentados con Cas-CCa (303.15 g) consumieron mayor cantidad de dieta y con ello una mayor proporción de aminoácidos que los que fueron alimentados con Cas-FFe (283.45 g), esto pudo provocar la menor absorción de aminoácidos, puesto que la cantidad de nutrimento absorbido depende en parte de la cantidad disponible, si esta es alta, la absorción es baja (Mataix, 2005). Sin embargo, tal y como se mencionó anteriormente, se recomienda aumentar el número de determinaciones de D_a por cada lote para confirmar si la diferencia encontrada es realmente significativa, ya que la fuente de proteína en dichas dietas era la misma y no se esperaba encontrar diferencia alguna.

Por otro lado, en cuanto al porcentaje de D_a obtenido de la dieta a base de avena (49.27%), éste fue aparentemente inferior al de la dieta de Av-CCa (54.60%). Dicha diferencia pudo deberse a la variabilidad que existe entre individuos, por lo que nuevamente se sugiere incrementar el número de ensayos para tratar de compensarla y así obtener resultados aún más confiables. Otra razón pudo deberse a que los animales alimentados con la dieta de avena, ingirieron mayor cantidad de alimento (332.28 g) que los que consumieron Av-CCa (305.13 g), por lo que la proporción de aminoácidos ingerida fue mayor y esto pudo provocar la disminución en la cantidad de aminoácidos absorbidos, ya que la cantidad de nutrimento absorbido depende en parte de los nutrimentos disponibles, es decir, si la disponibilidad es alta en relación a los requerimientos de los individuos, la absorción disminuye y si la cantidad es baja, la absorción aumenta (Mataix, 2005).

Respecto a los valores de D_a obtenidos con las dietas de avena (49.27%) y Av-FFe (69.91%), se encontró que los animales de experimentación absorbieron aproximadamente un 20% más aminoácidos a partir de esta última dieta, lo cual se debió probablemente a que el ácido fítico presente en la avena pudo formar complejos más estables con el hierro que con los aminoácidos de la proteína del cereal, ya que dicho nutrimento se encontraba en mayor proporción debido a la adición del fumarato ferroso, dejando de esta manera más disponibles los aminoácidos para ser absorbidos por los organismos de prueba. Lo anterior pudo haberse reflejado en el incremento del valor de D_a obtenido de la dieta de Av-FFe. Asimismo, pudo deberse a la cantidad de alimento ingerido, ya que los organismos alimentados con la dieta de avena consumieron mayor cantidad que los individuos que ingirieron Av-FFe, por lo que la cantidad de aminoácidos consumida en el primer caso fue mayor y esto pudo provocar la menor absorción.

En cuanto a la diferencia encontrada entre los porcentajes de D_a de las dietas de Av-CCa (54.60%) y Av-FFe (69.91%), se infiere que el mayor porcentaje de digestibilidad obtenido a partir de esta última dieta, pudo deberse a la formación de complejos entre el fitato y el hierro, ya que este factor antinutricional (ácido

fítico) posee mayor afinidad por el hierro que por el calcio (Soriano, 2006), aumentando de esta manera la disponibilidad de los aminoácidos para ser absorbidos, incrementando con ello el valor de D_a de la dieta de Av-FFe.

Finalmente, al comparar los valores de digestibilidad aparente obtenidos a partir de las dietas de caseína, Cas-CCa y Cas-FFe (85.54, 79.97 y 89.38%, respectivamente), contra los de las dietas a base de avena (49.27%), Av-CCa (54.60%) y Av-FFe (69.91%), se encontró que los individuos alimentados con las dietas de caseína absorbieron mayor cantidad de aminoácidos que de las dietas a base de avena, lo cual pudo deberse a dos posibles razones. Por un lado, debido a que las dietas de avena poseían un mayor porcentaje de fibra, esto pudo aumentar la velocidad de tránsito de los nutrimentos en el tracto intestinal y disminuir el tiempo de absorción, lo cual a su vez pudo reflejarse en el bajo porcentaje de D_a que se obtuvo para el caso de las dietas a base de avena al ser comparadas contra las dietas de caseína. La otra razón, podría deberse a que la avena contiene ácido fítico, el cual pudo haber disminuido la digestibilidad de la proteína debido a que éste es un factor antinutricional capaz de reducir la biodisponibilidad de algunos nutrimentos tales como hierro, calcio y algunos aminoácidos, al formar complejos insolubles con los mismos (Repetto, 1995).

En conclusión, referente a la calidad de la proteína evaluada mediante los métodos de Relación de Eficiencia Proteínica y Relación Neta de la Proteína de las dietas de caseína, no se encontró diferencia significativa entre ellas, lo cual era de esperarse puesto que la fuente de proteína era la misma y la única variación que existía entre dichas dietas fue la adición de las sales correspondientes. Sin embargo, al realizar el análisis de la calidad proteínica mediante el método de digestibilidad aparente se encontraron diferencias entre las dietas Cas vs Cas-CCa y Cas-CCa vs Cas-FFe, debido probablemente a que este método considera la cantidad de nitrógeno retenido, el cual a su vez va a estar afectado por factores como la cantidad de alimento ingerido, la presencia de fibra y de factores antinutricionales, mientras que en las pruebas de REP y RNP, únicamente se

considera el incremento de peso relacionado con la cantidad de alimento ingerido y no se logran detectar directamente otros factores que puedan influir sobre la calidad de la proteína. El comportamiento de los datos de las dietas de caseína mencionado anteriormente, también se observó para el caso de las dietas a base de avena, es decir, los valores de REP y RNP no fueron significativamente diferentes, mientras que en algunos valores de digestibilidad aparente sí se encontraron diferencias, lo cual pudo deberse a la carencia de réplicas necesarias para el análisis estadístico o a las variables mencionadas anteriormente (contenido de fibra, presencia de factores antinutrimientales, alimento ingerido, etc.).

11. Determinación de biodisponibilidad de hierro

La biodisponibilidad de hierro en cada una de las dietas evaluadas se determinó realizando un balance de dicho micronutriente, para ello, se cuantificó el contenido de hierro en dos pool de tres ratas cada uno, obteniéndose dos valores de biodisponibilidad de hierro por cada lote. El valor promedio le fue restado a la cantidad de hierro presente en la dieta que ingirieron las ratas durante la última semana de experimentación.

Cabe mencionar que la cantidad adicionada de fumarato ferroso y citrato de calcio a las dietas correspondientes (Cas-FFe, Av-FFe, Cas-CCa y Av-CCa, respectivamente), se realizó con base en los requerimientos de los organismos de experimentación, es decir, se adicionaron 2.13 g fumarato ferroso/2 kg dieta (equivalentes a 700 mg de hierro/2 kg dieta) y 14.95 g de citrato de calcio/2 kg dieta (equivalentes a 2.92 g de calcio/2 kg dieta), de tal manera que dichas cantidades cubrieron las necesidades de hierro y calcio de los individuos. Sin embargo, es importante señalar que en el presente estudio no se consideró el aporte de hierro y calcio de la mezcla de minerales ni de la fuente de proteína (avena), por lo que las cantidades de sales adicionadas resultaron excesivas y no se logró evaluar la biodisponibilidad de dichos nutrientes, por lo que se sugiere que para futuros estudios sobre biodisponibilidad, se consideren las variables

mencionadas para que las dietas contengan los nutrimentos a analizar en cantidad tal, que estén presentes por debajo de los requerimientos de los individuos.

Los valores referentes al balance de hierro obtenidos por cada pool se muestran en el Anexo D, mientras que los valores promedio se presentan a continuación:

Tabla 11. Contenido de hierro ingerido, excretado y su biodisponibilidad en las dietas analizadas¹

Clave de la muestra	mg de Fe ingeridos	mg de Fe excretados	% Fe absorbido
Caseína	17.48	3.74	78.45
Cas-CCa	15.12	3.87	74.51
Cas-FFe	112.55	62.30	44.64
Avena	20.82	4.16	80.10
Av-CCa	16.80	3.52	79.10
Av-FFe	108.90	65.70	39.36

¹*Balance de hierro. Se realizó una determinación por cada pool de heces provenientes de tres ratas, obteniéndose dos valores de balance de hierro por cada lote. Valor promedio.*

Con base en los resultados mostrados en la Tabla 11 se puede observar que el porcentaje de hierro absorbido a partir de la dieta de caseína (78.45%) aparentemente fue similar al de la dieta de Cas-CCa (74.51%). La mínima diferencia encontrada pudo deberse a la variabilidad intraespecie, es por ello que se recomienda para estudios similares, aumentar el número de organismos con los que se realice la experimentación o que la determinación se realice de manera individual con su correspondiente triplicado para tratar de compensar dicha variabilidad y con ello comprobar si la diferencia encontrada es o no significativa. Otra razón por la cual pudo haberse observado la menor absorción de hierro a partir de la dieta de Cas-CCa, pudo deberse al mayor contenido de calcio presente en dicha dieta (causado por la adición de citrato de calcio a la misma), el cual pudo influir sobre la absorción del hierro, ya que el calcio es uno de los factores que disminuye la absorción de dicho micronutriente.

Por otro lado, al comparar la cantidad de hierro absorbido de las dietas de caseína (78.45%) y Cas-CCa (74.51%), contra la obtenida de la dieta de caseína adicionada con fumarato ferroso (44.64%), claramente se observó una disminución en la absorción de hierro a partir de esta última dieta (~32% menor absorción). Dicho decremento pudo deberse a que al adicionar la sal ferrosa a la dieta de Cas-FFe se incrementó considerablemente la cantidad de hierro presente en la misma, lo cual pudo causar la disminución en la proporción de hierro absorbido, ya que ésta depende en parte de la cantidad de hierro disponible, es decir, si la cantidad es alta en relación al requerimiento, la absorción es menor y si ésta es baja, la absorción es mayor (Mataix, 2005).

Respecto a los valores de biodisponibilidad de hierro obtenidos a partir de las dietas de avena (80.10%) y Av-CCa (79.10%), se puede decir que los organismos de experimentación absorbieron prácticamente la misma cantidad de hierro, lo cual era de esperarse puesto que dichas dietas poseían la misma proporción de dicho micronutriente, ya que el aporte de hierro provenía tanto de la fuente de proteína (avena), como de la mezcla de minerales.

En cambio, al comparar el porcentaje de hierro absorbido de la dieta de Av-FFe (39.36%) contra los obtenidos de las dietas de avena y Av-CCa (80.10 y 79.10%, respectivamente), se encontró que los animales de experimentación asimilaban aparentemente 40% menor cantidad de hierro a partir de la dieta de Av-FFe. Esto pudo deberse a que al haber un mayor contenido de hierro presente en dicha dieta, la absorción fue menor, ya que la cantidad de nutriente absorbido depende en parte de los requerimientos de los individuos, así como de la disponibilidad de dicho micronutriente, tal y como se mencionó anteriormente. Con base en lo anterior, se recomienda que para estudios posteriores se investiguen las cantidades de fumarato ferroso que se pueden adicionar, para así conocer la cantidad "ideal" con la cual se logre observar el mayor porcentaje de hierro absorbido, además de utilizar una sola fuente de hierro para así evaluar adecuadamente la biodisponibilidad del mismo.

Con base en la cantidad de hierro absorbido a partir de la dieta de caseína (78.45%) y la absorbida de la dieta de avena (80.1%), se observó que los organismos alimentados con estas dietas aparentemente absorbieron una cantidad semejante, sin embargo, la mínima diferencia encontrada pudo deberse a la variabilidad intraespecie, por lo que se recomienda para estudios posteriores se incremente el número de animales con los que se realice la experimentación para poder llevar a cabo el análisis estadístico con el cual se pueda concluir de manera confiable si la diferencia encontrada es o no significativa.

Al comparar el valor de biodisponibilidad de hierro proveniente de la dieta de Cas-CCa (74.51%) contra el obtenido de la dieta de Av-CCa (79.10%), se encontró que los organismos de experimentación alimentados con dichas dietas aparentemente absorbieron una cantidad semejante.

Respecto al porcentaje de hierro absorbido de la dieta de Cas-FFe (44.64%) y el asimilado a partir de la dieta de Av-FFe (39.36%), se encontró que aparentemente los individuos absorbieron mayor cantidad a partir de la dieta de Cas-FFe. Esta diferencia pudo deberse a que los organismos de experimentación ingirieron en promedio una mayor cantidad de dieta de Av-FFe (316.12 g) que de la de Cas-FFe (283.45 g) y con ello una mayor proporción de hierro, lo cual a su vez pudo provocar la disminución en el porcentaje de absorción.

12. *Determinación de biodisponibilidad de calcio*

La biodisponibilidad de calcio en cada una de las dietas estudiadas se determinó realizando un balance de dicho nutrimento, tal y como se hizo para el caso del hierro, es decir, se cuantificó el contenido de calcio presente en dos pool de tres ratas cada uno, obteniéndose dos valores de biodisponibilidad de calcio por cada lote. El valor promedio le fue restado a la cantidad de calcio presente en la dieta que ingirieron las ratas durante la última semana de experimentación y de esta manera se obtuvo el balance de dicho micronutrimento.

Cabe mencionar, que a pesar de que el carbonato de calcio es una de las formas más empleadas como suplemento de calcio, no fue adicionado a las dietas correspondientes (Cas-CCa y Av-CCa), debido a que es más insoluble que el citrato de calcio, es por ello que se decidió evaluar esta última sal, ya que es más soluble y por lo tanto más absorbible. Por otra parte, es importante señalar que la caseína empleada como patrón de referencia se utilizó con un 83% de pureza y no en forma de caseinato de calcio, por lo que el aporte de calcio a partir de dicha dieta únicamente provino del citrato de calcio y de la mezcla de minerales.

Los valores promedio obtenidos de biodisponibilidad de calcio se muestran en la Tabla 12, mientras que los valores de balance de calcio correspondientes a cada pool se muestran en el Anexo E.

Tabla 12. Contenido de calcio ingerido, excretado y su biodisponibilidad en las dietas analizadas¹

Clave de la muestra	mg de Ca ingeridos	mg de Ca excretados	% Ca absorbido
Caseína	951.94	231.63	75.27
Cas-CCa	1327.87	447.10	66.42
Cas-FFe	801.57	100.87	87.40
Avena	419.10	39.92	90.57
Av-CCa	376.75	101.37	73.15
Av-FFe	352.26	23.68	93.27

¹Balance de calcio. Se realizó una determinación por cada pool de heces provenientes de tres ratas, obteniéndose dos valores de balance de calcio por cada lote. Valor promedio.

Respecto a la cantidad de calcio absorbido a partir de la dieta de caseína (75.27%) y la de la dieta de Cas-FFe (87.40%), se observó que a partir de esta última dieta los animales de experimentación aparentemente asimilaron una mayor cantidad de calcio disponible, lo cual pudo deberse a que los organismos alimentados con Cas-FFe ingirieron una menor proporción de dieta (283.45 g) que los que consumieron caseína (320.26 g) y con ello una menor cantidad de calcio, lo cual a su vez pudo favorecer la absorción del nutrimento, ya que cuando la ingesta de calcio se reduce, su absorción incrementa y cuando la ingesta

aumenta, la absorción disminuye (Campbell, 1997). Cabe mencionar que la cantidad de fumarato ferroso adicionada (0.04%) a las dietas correspondientes (Cas-FFe y Av-FFe), aparentemente no influyó de manera antagónica sobre la absorción del calcio, ya que los resultados mostraron que la absorción de este micronutriente fue relativamente elevada ($> 87\%$), a pesar de que el hierro estaba presente en mayor proporción en dichas dietas.

Al comparar el porcentaje de calcio absorbido a partir de las dietas de caseína y Cas-FFe (75.27 y 87.40%, respectivamente), contra el de la dieta de Cas-CCa (66.42%) se observó que la absorción de dicho micronutriente fue mucho mayor a partir de las dietas que no fueron adicionadas con citrato de calcio. Esto debido a que la cantidad de calcio absorbido depende de la disponibilidad del micronutriente, tal y como se mencionó anteriormente.

Por otra parte, respecto a la biodisponibilidad de calcio obtenida por la dieta de avena (90.57%) y la generada por la dieta de Av-FFe (93.27%), se encontró que los organismos que ingirieron dichas dietas, aparentemente absorbieron la misma cantidad de calcio. Lo anterior, era de esperarse puesto que ambas dietas poseían la misma cantidad de calcio, el cual provenía tanto de la fuente de proteína como de la mezcla de minerales y la única variación que existía en dichas dietas fue la adición del fumarato ferroso. Sin embargo, para lograr confirmar dicho resultado, se sugiere realizar la determinación de balance de calcio por cada individuo de experimentación, para así contar con el número de réplicas necesarias para llevar a cabo el correspondiente análisis estadístico.

El porcentaje de calcio asimilado de la dieta de Av-CCa (73.15%), fue mucho menor al absorbido de las dietas de avena y Av-FFe (90.57 y 93.27%, respectivamente). Esto pudo deberse a la adición del citrato de calcio, ya que al haber una mayor proporción de calcio en la dieta de Av-CCa, la absorción del mismo disminuyó.

Respecto a la cantidad de calcio absorbido de la dieta de caseína (75.27%) y a la de la dieta de avena (90.57%), se observó que hubo mayor absorción de calcio a

partir de la dieta de avena, lo cual pudo deberse a que los organismos de experimentación consumieron una menor cantidad de dieta de avena y con ello una menor cantidad de calcio (ver anexo E), lo cual pudo generar un incremento en la absorción del mismo. Asimismo, al comparar el porcentaje de calcio absorbido a partir de la dieta de Cas-CCa (66.42%), contra el de la dieta de Av-CCa (73.15%), se encontró que la absorción de calcio fue aparentemente mayor en esta última, debido probablemente a que los individuos alimentados con dicha dieta ingirieron una menor cantidad y con ello una menor proporción de calcio, lo cual favoreció la absorción del mismo. La mayor asimilación, también pudo deberse a la probable formación de quelatos solubles entre la arginina presente en mayor proporción en avena (5.36 g/16 g N) que en caseína (3.70 g/16 g N) y el calcio, aumentando con ello la absorción de dicho micronutriente (Bowman, 2003 y Wiolleta, 2009).

Por otro lado, al comparar la absorción de calcio obtenida de las dietas de Cas-FFe y Av-FFe (87.40 y 93.27%, respectivamente), se encontró que la absorción fue mayor a partir de la dieta de Av-FFe, lo cual probablemente se debió al mayor contenido de arginina en la avena, el cual pudo formar quelatos solubles con el calcio, aumentando de esta manera su absorción. Cabe mencionar que la presencia de hierro puede influir de manera negativa sobre la absorción del calcio, sin embargo, con base en los resultados se observó que la cantidad de fumarato ferroso adicionada (0.04%) a las dietas correspondientes, aparentemente no intervino de manera antagónica en la absorción del calcio.

13. Determinación de balance energético

A continuación se muestran los resultados correspondientes al balance energético obtenido a partir de las dietas evaluadas:

Tabla 13. Balance energético¹

Clave de la muestra	Energía ingerida (kJ)	Energía excretada (kJ)	% Energía absorbida
Caseína	7053.01	413.48	94.07
Cas-CCa	6326.91	587.60	90.76
Cas-FFe	6077.36	261.56	96.32
Avena	7208.52	636.98	91.18
Av-CCa	6525.31	541.42	91.72
Av-FFe	6833.84	304.86	95.50

¹Balance energético. Se realizó una determinación por cada pool de heces provenientes de tres ratas, obteniéndose dos valores de balance energético por cada lote. Valor promedio.

Con base en el balance energético obtenido de la dieta de caseína (94.07%) y el generado por la dieta a base de avena (91.18%), se encontró que los organismos que fueron alimentados con dichas dietas aparentemente asimilaron una cantidad similar de energía. Esto era de esperarse puesto que los animales en estudio eran individuos jóvenes que requerían emplear la mayor cantidad de energía posible para cubrir sus necesidades metabólicas, de desarrollo y crecimiento.

Por otra parte al comparar la cantidad de energía absorbida de la dieta de Cas-CCa (90.76%) contra la obtenida de la dieta de Av-CCa (91.72%), se observó que los organismos de experimentación aprovecharon prácticamente la misma cantidad de energía, lo cual era de esperarse puesto que las dietas fueron elaboradas de tal manera que proporcionaran la misma cantidad de energía (18 kJ/g dieta). Asimismo, en relación a los balances energéticos obtenidos de las dietas de Cas-FFe (96.32%) y Av-FFe (95.50%), se observó que la cantidad de energía asimilada por los individuos alimentados con dichas dietas fue semejante, lo cual era de esperarse, debido a que las dietas eran isoenergéticas.

En general, con base en los porcentajes de energía obtenidos, puede decirse que éstos fueron elevados (mayores al 90%), lo cual era de esperarse ya que los organismos utilizados durante la experimentación eran jóvenes, por lo que requerían aprovechar la mayor cantidad de energía posible para su crecimiento. Dicho desarrollo puede observarse en el Gráfico 2 del presente trabajo.

14. Determinación de Energía Gruesa (EG) y Energía Digerible (ED)

Los resultados referentes a EG y ED de las dietas evaluadas se muestran en la Tabla 14.

Con base en los valores de energía gruesa (EG) obtenidos a partir de las dietas a base de caseína, se encontró que en promedio dichas dietas aportaron 16.4 kJ/g. Éste valor resultó ser menor al esperado (18 kJ/g) debido probablemente a que al realizar los cálculos para el ajuste del 10% de proteína, se consideró que la caseína empleada poseía el 95% de pureza que el proveedor reportaba, sin embargo al momento de realizar la determinación de densidad energética en las dietas, se obtuvieron valores menores a los 18 kJ/g esperados, por lo que se decidió evaluar la cantidad de proteína de la materia prima (caseína) para corroborar la pureza de la misma. Una vez realizada dicha determinación, se encontró que el contenido proteínico era del 83%, lo cual explicó la menor densidad energética encontrada en las dietas, ya que éstas contenían menor cantidad de proteína.

Tabla 14. Valores de EG y ED de las dietas evaluadas

Clave de la muestra	EG (kJ/g)	ED (kJ/g)
Caseína	16.30	15.33
Cas-CCa	16.20	14.71
Cas-FFe	16.68	15.96
Avena	17.20	15.68
Av-CCa	17.32	15.89
Av-FFe	17.46	16.68

Respecto a los valores de EG generados por las dietas de avena (17.32 kJ/g, en promedio), se encontró que éstos fueron relativamente cercanos a los 18 kJ/g esperados, sin embargo, para comprobar si la diferencia encontrada es o no significativa se sugiere que para futuros experimentos se incremente el número de determinaciones por cada dieta para lograr realizar el análisis estadístico y así concluir de manera confiable.

Por otra parte, al comparar los valores de energía gruesa (EG) obtenidos a partir de las dietas de caseína (16.30 kJ/g), Cas-CCa (16.20 kJ/g) y Cas-FFe (16.68 kJ/g), contra los de energía digerible (ED) de dichas dietas (15.33, 14.71, 15.96 kJ/g, respectivamente), se encontró que los valores de EG fueron superiores a los de ED, lo cual era de esperarse ya que la energía gruesa representa la energía liberada por la oxidación completa de los nutrimentos presentes en el alimento, pero no considera las pérdidas energéticas producidas por el metabolismo de los individuos, mientras que la energía digerible representa la proporción de energía obtenida de los alimentos que es aprovechada por los organismos de experimentación (O'Neale, 2003). Esta determinación considera la cantidad de energía perdida en las heces, sin embargo, no toma en cuenta las pérdidas energéticas generadas en la orina, por lo que la ED sobreestima la cantidad de energía que los organismos emplearon para la realización de sus funciones biológicas. Es por ello que se recomienda para estudios similares que también se recolecte la orina para determinar la energía metabolizable (EM), ya que este parámetro considera la energía perdida en heces y en orina (Crampton, 1974), lo que aportaría un valor más cercano a la realidad, es decir, representaría la proporción de energía que los individuos obtuvieron del alimento y que emplearon para la realización de sus funciones biológicas.

En cuanto a los valores de energía digerible obtenidos de las dietas de avena, Av-CCa y Av-FFe (15.68, 15.89, 16.68 kJ/g, respectivamente) y los valores de energía gruesa de estas mismas dietas (17.20, 17.32 y 17.46 kJ/g, respectivamente), se observó que los valores de ED fueron inferiores a los de EG, lo cual puede explicarse de la misma manera que el caso de las dietas de caseína.

VI. CONCLUSIONES

- Se determinó y comparó el contenido de macronutrientes y micronutrientes de la harina de avena, confirmando el valor de proteína (12 g/100 muestra), dato superior al de maíz, arroz y cebada.
- Los valores de REP_a , RNP_a y D_a corroboraron que la harina de avena contiene proteína de mediana eficiencia de conversión y que la adición de citrato de calcio y fumarato ferroso no afectaron su calidad.
- La biodisponibilidad de hierro y calcio no pudo ser evaluada de manera idónea, debido a que la cantidad adicionada de fumarato ferroso (0.04%) y citrato de calcio (0.15%) a las dietas correspondientes resultó ser excesiva, lo cual provocó una disminución en la absorción de dichos micronutrientes en comparación con las dietas que no fueron enriquecidas.
- El balance energético permitió corroborar que los organismos de experimentación emplearon más del 90 % de la energía obtenida de las dietas, lo cual fue lo esperado, ya que al ser individuos jóvenes requerían emplear la mayor cantidad de energía posible para cubrir sus necesidades metabólicas, de desarrollo y crecimiento.
- Los resultados obtenidos formarán parte de una base de datos de consulta bajo las condiciones experimentales con las que se cuenta en los laboratorios del Departamento de Alimentos y Biotecnología de la Facultad de Química.

VII. BIBLIOGRAFÍA

AOAC, "Official Methods of Analysis of AOAC International", method number 920.85, 16^a ed., Washington, D.C., Published by AOAC, 2005.

AOAC, "Official Methods of Analysis of AOAC International", method number 920.86, 16^a ed., Washington, D.C., Published by AOAC, 2005.

AOAC, "Official Methods of Analysis of AOAC International", method number 923.03, 16^a ed., Washington, D.C., Published by AOAC, 2005.

AOAC, "Official Methods of Analysis of AOAC International", method number 944.02, 16^a ed., Washington, D.C., Published by AOAC, 2005.

AOAC, "Official Methods of Analysis of AOAC International", method number 944.03, 16^a ed., Washington, D.C., Published by AOAC, 2005.

AOAC, "Official Methods of Analysis of AOAC International", method number 950.01, 16^a ed., Washington, D.C., Published by AOAC, 2005.

AOAC, "Official Methods of Analysis of AOAC International", method number 960.48, 16^a ed., Washington, D.C., Published by AOAC, 2005.

Bowman, B. "Conocimientos actuales sobre nutrición". 8^a ed., Washington, D.C., OPS, 2003. pp. 7-11.

Campbell, W. "Urología". 9^a ed., Argentina, Panamericana, S.A., 1997, pp. 1371-1372.

Crampton, E. "Nutrición animal aplicada". 2^a ed., Zaragoza, España, Acribia, 1974. pp. 70-79.

Devlin, T. "Bioquímica". 4ª ed., Barcelona, España, Reverté, 2004. pp. 291-294.

Fairweather T. "Bioavailability of trace elements". Food chemistry; Vol. 43, 1992. pp. 213-217.

FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations. "Amino-acid content of foods and biological data on proteins. Interprint, Roma, 1970. pp. 38, 39, 196.

FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations. Principales productores de alimentos y productos agrícolas. Países por producto básico [en línea]

<<http://www.fao.org/es/ess/top/commodity.html?lang=es&item=75&year=2005>>
[consulta: 20 julio 2011].

FAO/OMS/UNU. Necesidades de energía y de proteínas. Informe de una reunión consultiva conjunta de expertos. Serie de Informes Técnicos 724, OMS, 1985. [en línea]

<<http://www.rlc.fao.org/es/agricultura/produ/cdrom/contenido/libro10/biblio.htm#74>>
> [consulta 27 agosto 2011].

FAS-USDA, Foreign Agricultural Service. Informe de julio de 2010 del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos [en línea]
<<http://www.cotriza.cl/mercado/avena/internacional/detalle.php>> [consulta 9 noviembre 2011].

Fennema, O. "Química de alimentos". 2ª ed., Zaragoza, España, Acribia, 2000, pp. 736-767.

Fomon, S. "Prevención de la deficiencia de hierro y la anemia por ésta durante los primeros cinco años de vida". Boletín Médico Hospital Infantil México; Vol. 58, 2001. pp. 1146-1665.

Gil, A. "Tratado de Nutrición: composición y calidad nutricional de los alimentos". 2ª ed., México, Panamericana, 2010. pp. 105-107, 118-124.

Hernández, R. "Tratado de nutrición", Madrid, España, Ediciones Díaz Santos, 1999. pp. 111-112.

Hoseney, C. "Principios de ciencia y tecnología de los cereales". Zaragoza, España, Acribia, 1992. pp. 82-83.

INEGI, Instituto Nacional de Estadística y Geografía e Informática. Resumen de la producción agrícola, pecuario y agroindustrial [en línea] <http://buscador.inegi.org.mx/search?tx=PRODUCCION+AVENA&CboBuscador=default_collection&q=*&entsp=a__inegi_politica&Proxyreload=1&numgm=5> [consulta 23 julio 2011].

Kaufer, H. "Nutriología Médica: Aspectos nutricios de la anemia". 2ª ed. Médica Panamericana, 2001. pp. 244-267.

Lloyd, E. "Fundamentos de Nutrición". Zaragoza, España, Acribia, 1999. pp. 228, 235-236, 249-250.

Mahan, K. "Nutrición y dietoterapia de Krause". 10ª ed., México, McGraw-Hill Interamericana, 2001. pp. 14, 63, 64, 122-127, 136-142.

Mataix, V. "Nutrición para educadores". 2ª ed., España, Fundación Universitaria Iberoamericana, 2005. pp. 163-165, 173-177.

Muñoz M., *et al.* Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INNSZ). Ingestión diaria recomendada (IDR) de proteínas, vitaminas y nutrimentos inorgánicos para la población mexicana, 2001. pp. 5.

Olaiz, G., *et al.* “Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2006”. Cuernavaca, México, Instituto Nacional de Salud Pública, 2006. pp. 109-116.

O’Neale, J. “Lo esencial en el metabolismo y nutrición”. Madrid, España, Acribia, 2003. pp. 145.

Osca, LI. “Cultivos herbáceos extensivos: cereales”. 2ª ed., Valencia, España, Universidad Politécnica de Valencia, 2007. pp. 138-139.

Pérez, F., *et al.* “Calidad nutritiva de los alimentos”. Nutrición Hospitalaria, Vol. 13: 95-8, 1998. pp. 621-627 y 634-637.

Repetto, M. “Toxicología avanzada”. Madrid, España, Ediciones Díaz de Santos, S.A. 1995. pp. 224-226.

Robinson, D. “Bioquímica y valor nutritivo de los alimentos”. Acribia, Zaragoza, España, 1991. pp. 122-131.

Robinson, D. “Bioquímica y valor nutritivo de los alimentos”. 2ª ed., Zaragoza, España, Acribia, 1999. pp. 209-301.

Romo, S., *et al.* “Potencial nutricional de harinas de quinua (*Chenopodium quinoa* w), variedad piartal en los andes colombianos (segunda parte)”. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Vol. 5 (2), 2007, pp. 45-47.

Soriano, J. “Nutrición básica humana”. Valencia, España, PUV, publicaciones, 2006. pp. 287-291.

Tolonen, M. "Vitaminas y minerales en la salud y la nutrición". 2ª ed., Zaragoza, España, Acribia, 1998. pp. 217-220.

Trejo, M. "Cuantificación de hierro biodisponible mediante un método in vitro en alimentos de origen animal y vegetal (crudos y cocidos)". Tesis Licenciatura, Facultad de Química, UNAM, México, D.F., 2006. pp. 10.

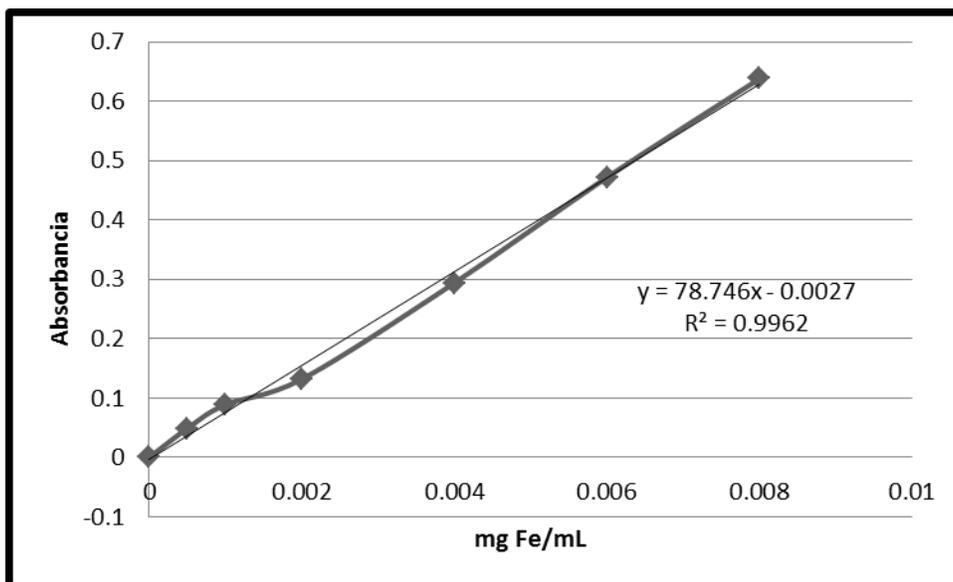
Venegas, S. "Elaboración de una base de datos de consulta referente a la calidad nutritiva proteica de diferentes alimentos de origen animal y vegetal". Tesis Licenciatura, Facultad de Química, UNAM, México, D. F., 2011. pp. 52-55.

Wioletta B., et al. "Chemical composition and nutritive value of husked and naked oats grain". Journal of Cereal Science, Vol. 49, 2009. pp. 413-418.

VIII. ANEXOS

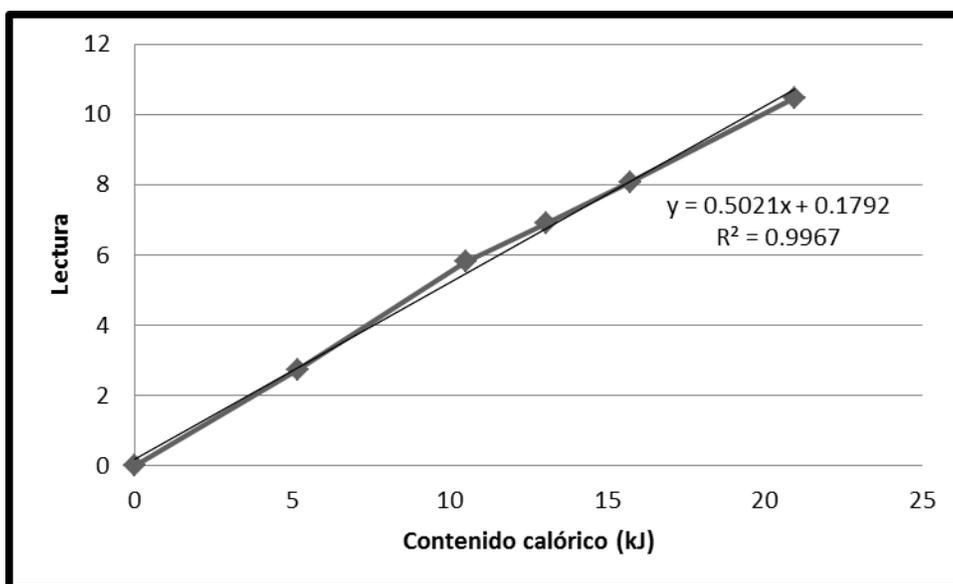
Anexo A. Curva estándar de hierro.

Gráfico 8. Curva estándar de hierro



Anexo B. Curva de calibración de ácido benzoico.

Gráfico 9. Curva de calibración de ácido benzoico



Anexo C. Resultados empleados para calcular los valores de digestibilidad aparente.

Dieta: Caseína	Alimento ingerido (g)	Heces excretadas (g)	Nitrógeno ingerido (g)	Nitrógeno excretado (g)
Rata 1-3	364.90	24.10	1.64	0.24
Rata 4-6	500.50	28.70	2.24	0.32

Dieta: Cas-CCa	Alimento ingerido (g)	Heces excretadas (g)	Nitrógeno ingerido (g)	Nitrógeno excretado (g)
Rata 1-3	357.00	27.20	1.57	0.30
Rata 4-6	424.10	35.70	1.86	0.39

Dieta: Cas-FFe	Alimento ingerido (g)	Heces excretadas (g)	Nitrógeno ingerido (g)	Nitrógeno excretado (g)
Rata 1-3	362.00	16.30	1.64	0.20
Rata 4-6	366.70	14.40	1.66	0.15

Dieta: Avena	Alimento ingerido (g)	Heces excretadas (g)	Nitrógeno ingerido (g)	Nitrógeno excretado (g)
Rata 1-3	401.80	31.30	2.04	0.99
Rata 4-6	436.40	36.90	2.21	1.17

Dieta: Av-CCa	Alimento ingerido (g)	Heces excretadas (g)	Nitrógeno ingerido (g)	Nitrógeno excretado (g)
Rata 1-3	360.20	27.10	1.88	0.79
Rata 4-6	393.30	31.60	2.04	1.00

Dieta: Av-FFe	Alimento ingerido (g)	Heces excretadas (g)	Nitrógeno ingerido (g)	Nitrógeno excretado (g)
Rata 1-3	375.40	21.10	1.88	0.68
Rata 4-6	407.40	16.10	2.04	0.49

Anexo D. Resultados empleados para el balance de hierro.

Dieta: Caseína	Alimento ingerido (g)	Heces excretadas (g)	Hierro ingerido (mg)	Hierro excretado (mg)
Rata 1-3	364.90	24.10	14.74	3.35
Rata 4-6	500.50	28.70	20.22	4.12

Dieta: Cas-CCa	Alimento ingerido (g)	Heces excretadas (g)	Hierro ingerido (mg)	Hierro excretado (mg)
Rata 1-3	357.00	27.20	13.82	3.39
Rata 4-6	424.10	35.70	16.41	4.34

Dieta: Cas-FFe	Alimento ingerido (g)	Heces excretadas (g)	Hierro ingerido (mg)	Hierro excretado (mg)
Rata 1-3	362.00	16.30	111.82	66.06
Rata 4-6	366.70	14.40	113.27	58.51

Dieta: Avena	Alimento ingerido (g)	Heces excretadas (g)	Hierro ingerido (mg)	Hierro excretado (mg)
Rata 1-3	401.80	31.30	19.97	3.69
Rata 4-6	436.40	36.90	21.67	4.62

Dieta: Av-CCa	Alimento ingerido (g)	Heces excretadas (g)	Hierro ingerido (mg)	Hierro excretado (mg)
Rata 1-3	360.20	27.10	16.06	3.27
Rata 4-6	393.30	31.60	17.54	3.76

Dieta: Av-FFe	Alimento ingerido (g)	Heces excretadas (g)	Hierro ingerido (mg)	Hierro excretado (mg)
Rata 1-3	375.40	21.10	104.44	71.41
Rata 4-6	407.40	16.10	113.34	59.97

Anexo E. Resultados empleados para el balance de calcio.

Dieta: Caseína	Alimento ingerido (g)	Heces excretadas (g)	Calcio ingerido (mg)	Calcio excretado (mg)
Rata 1-3	364.90	24.10	802.78	219.31
Rata 4-6	500.50	28.70	1101.10	243.95

Dieta: Cas-CCa	Alimento ingerido (g)	Heces excretadas (g)	Calcio ingerido (mg)	Calcio excretado (mg)
Rata 1-3	357.00	27.20	1213.80	394.40
Rata 4-6	424.10	35.70	1441.94	499.80

Dieta: Cas-FFe	Alimento ingerido (g)	Heces excretadas (g)	Calcio ingerido (mg)	Calcio excretado (mg)
Rata 1-3	362.00	16.30	796.40	112.47
Rata 4-6	366.70	14.40	806.74	89.28

Dieta: Avena	Alimento ingerido (g)	Heces excretadas (g)	Calcio ingerido (mg)	Calcio excretado (mg)
Rata 1-3	401.80	31.30	401.80	28.17
Rata 4-6	436.40	36.90	436.40	51.66

Dieta: Av-CCa	Alimento ingerido (g)	Heces excretadas (g)	Calcio ingerido (mg)	Calcio excretado (mg)
Rata 1-3	360.20	27.10	360.20	92.14
Rata 4-6	393.30	31.60	393.30	110.60

Dieta: Av-FFe	Alimento ingerido (g)	Heces excretadas (g)	Calcio ingerido (mg)	Calcio excretado (mg)
Rata 1-3	375.40	21.10	337.86	23.21
Rata 4-6	407.40	16.10	366.66	24.15

Anexo F. Ejemplo de cálculo para la elaboración de la dieta a base de avena.

A continuación se muestra el análisis bromatológico de la avena evaluada:

Componente	g/100 g muestra
Humedad	4.48
Proteína cruda	11.46
Grasa cruda	6.80
Fibra Cruda	5.96
Cenizas	1.66
Hidratos de carbono	69.64
Total	100.00

Debido a que la dieta a base de avena debía ser isoproteínica con respecto a la dieta de referencia (10 % de proteína), los cálculos se ajustaron de la siguiente manera:

$$10g \text{ proteína} = \left(\frac{100g \text{ avena}}{11.46g \text{ proteína}} \right) = 87.26g \text{ avena}$$

En 87.26 g de avena se tenían 10 g de proteína, pero a su vez dicha cantidad de muestra proporcionaba lo siguiente:

$$87.26g \text{ avena} = \left(\frac{6.8g \text{ lípidos}}{100g \text{ avena}} \right) = 5.93g \text{ lípidos}$$

$$87.26g \text{ avena} = \left(\frac{69.64g \text{ HC}}{100g \text{ avena}} \right) = 60.75g \text{ HC}$$

$$87.26g \text{ avena} = \left(\frac{1.66g \text{ cenizas}}{100g \text{ avena}} \right) = 1.44g \text{ cenizas}$$

$$87.26g \text{ avena} = \left(\frac{5.96g \text{ fibra}}{100g \text{ avena}} \right) = 5.19g \text{ fibra}$$

$$87.26g \text{ avena} = \left(\frac{4.48g \text{ humedad}}{100g \text{ avena}} \right) = 3.90g \text{ humedad}$$

Por otra parte, debido a que la dieta de referencia poseía una densidad energética de 18 kJ/g, el contenido energético de la dieta evaluada fue ajustado de la siguiente forma:

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

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

De igual manera fueron calculadas las proporciones correspondientes a los lípidos, pero esta vez considerando 14 g como el 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 que fueron calculadas las proporciones en las que se encontraban, tanto los hidratos de carbono como los lípidos en la dieta de referencia, la dieta de estudio fue ajustada como se describe a continuación:

Puesto que la fuente de proteína aportaba 60.75 g de hidratos de carbono, entonces se calculó la cantidad que se adicionó a la dieta de estudio para completar los 66 g que se requerían para que se mantuviera isoenergética con respecto a la dieta de referencia.

$66 \text{ g} - 60.76 \text{ g} = 5.24 \text{ g}$ de hidratos de carbono que se añadieron a la dieta a base de avena.

De los cuales:

$$5.24 \text{ g HC} = \left(\frac{33.33 \text{ g sac}}{100 \text{ g HC}} \right) = 1.75 \text{ g sac}$$

$$5.24g HC = \left(\frac{28.79g glu}{100g HC} \right) = 1.51g glu$$

$$5.24g HC = \left(\frac{37.88g dex}{100g HC} \right) = 1.98g dex$$

De igual manera, se realizó el ajuste del contenido de lípidos:

14 g – 5.93 g = 8.07 g de lípidos que se adicionaron a la dieta a evaluar.

De los cuales:

$$8.07g \text{ lípidos} = \left(\frac{57.14g \text{ manteca vegetal}}{100g \text{ lípidos}} \right) = 4.61g \text{ manteca vegetal}$$

$$8.07g \text{ lípidos} = \left(\frac{42.86g \text{ aceite}}{100g \text{ lípidos}} \right) = 3.46g \text{ aceite}$$

En cuanto al ajuste del contenido de minerales, éste se calculó de la siguiente manera:

2 g – 1.44 g = 0.56 g de minerales adicionados a la dieta de estudio.

Con respecto a la cantidad de vitaminas (1.0 g/100 g dieta) y de colina (0.4 g/100 g dieta), éstas fueron adicionadas tal y como lo indicaba la formulación de la dieta de referencia.

Anexo G. Registro de los datos obtenidos de los ensayos biológicos:

LOTE 1. Dieta a base de Caseína

REGISTRO DE DATOS PARA LA PRUEBA BIOLÓGICA NUTRICIONAL												
Rata: <u>Wistar</u> Sexo: <u>M</u> Peso inicial (Pi): <u>29.1 g</u> Dieta: <u>Cas 1</u> Fecha: <u>08/Nov/10</u>												
Tiempo (días)	2	4	9	10	12	15	17	19	22	24	26	28
Peso animal (P _{día})	31.4	34.2	41	45	50.6	62.0	68.7	77.1	83.7	90.0	93.4	104.5
Incremento acumulado (P _{día} -Pi)	2.3	5.1	11.9	15.9	21.5	32.9	39.6	48.0	54.6	60.9	64.3	75.4
Alimento inicial (I)	259.9	281.8	310.8	283.8	285.5	299.0	289.9	280.5	299.7	283.2	288.7	287.8
Alimento final (F)	253.7	271.0	283.8	275.1	268.7	270.7	268.1	259.4	265.3	259.8	266.2	248.4
Alimento ingerido (AI=I-F)	6.2	10.8	27	8.7	16.8	28.3	21.8	21.1	34.4	23.4	22.5	39.4
Alimento acumulado (Σ AI) _{día}	6.2	17.0	44.0	52.7	69.5	97.8	119.6	140.7	175.1	198.5	221.0	260.4

REGISTRO DE DATOS PARA LA PRUEBA BIOLÓGICA NUTRICIONAL												
Rata: <u>Wistar</u> Sexo: <u>M</u> Peso inicial (Pi): <u>40.5 g</u> Dieta: <u>Cas 2</u> Fecha: <u>08/Nov/10</u>												
Tiempo (días)	2	4	9	10	12	15	17	19	22	24	26	28
Peso animal (P _{día})	44.9	49.0	63.0	66.3	76.8	89.2	92.0	99.3	105.6	110.5	116.0	131.0
Incremento acumulado (P _{día} -Pi)	4.4	8.5	22.5	25.8	36.3	48.7	51.5	58.8	65.1	70.0	75.5	90.5
Alimento inicial (I)	230.1	250.5	277.3	248.8	249.8	264.4	250.8	256.3	282.5	264.6	269.8	265.7
Alimento final (F)	220.3	237.8	243.1	239.2	225.7	229.5	231.1	242.1	248.6	241.9	247.7	222.8
Alimento ingerido (AI=I-F)	9.8	12.7	34.2	9.6	24.1	34.9	19.7	14.2	33.9	22.7	22.1	42.9
Alimento acumulado (Σ AI) _{día}	9.8	22.5	56.7	66.3	90.4	125.3	145.0	159.2	193.1	215.8	237.9	280.8

REGISTRO DE DATOS PARA LA PRUEBA BIOLÓGICA NUTRICIONAL												
Rata: <u>Wistar</u> Sexo: <u>M</u> Peso inicial (Pi): <u>43.2 g</u> Dieta: <u>Cas 3</u> Fecha: <u>08/Nov/10</u>												
Tiempo (días)	2	4	9	10	12	15	17	19	22	24	26	28
Peso animal (P _{día})	49.0	54.9	69.4	73.0	79.4	86.6	89.0	96.0	104.3	112.4	118.5	130.7
Incremento acumulado (P _{día} -Pi)	5.8	11.7	26.2	29.8	36.2	43.4	45.8	52.8	61.1	69.2	75.3	87.5
Alimento inicial (I)	286.3	302.4	327.8	296.9	298.5	318.7	309.0	307.5	330.5	310.1	313.2	324.0
Alimento final (F)	272.2	288.8	291.4	287.8	278.5	288.7	292.0	284.6	294.7	285.1	288.3	286.1
Alimento ingerido (AI=I-F)	14.1	13.6	36.4	9.1	20.0	30.0	17.0	22.9	35.8	25.0	24.9	37.9
Alimento acumulado (Σ AI) _{día}	14.1	27.7	64.1	73.2	93.2	123.2	140.2	163.1	198.9	223.9	248.8	286.7

REGISTRO DE DATOS PARA LA PRUEBA BIOLÓGICA NUTRICIONAL												
Rata: <u>Wistar</u> Sexo: <u>M</u> Peso inicial (Pi): <u>49.0 g</u> Dieta: <u>Cas 4</u> Fecha: <u>08/Nov/10</u>												
Tiempo (días)	2	4	9	10	12	15	17	19	22	24	26	28
Peso animal (P _{día})	54.1	60.5	75.8	79.0	83.4	90.0	94.4	101.2	103.4	121.7	134.0	143.5
Incremento acumulado (P _{día} -Pi)	5.1	11.5	26.8	30.0	34.4	41.0	45.4	52.2	54.4	72.7	85.0	94.5
Alimento inicial (I)	249.4	263.9	289.8	261.0	265.5	280.9	269.2	262.5	295.2	271.6	268.7	285.4
Alimento final (F)	234.6	247.3	249.6	251.4	245.2	249.6	248.3	239.5	254.2	243.5	240.7	240.4
Alimento ingerido (AI=I-F)	14.8	16.6	40.2	9.6	20.3	31.3	20.9	23.0	41.0	28.1	28.0	45.0
Alimento acumulado (Σ AI) _{día}	14.8	31.4	71.6	81.2	101.5	132.8	153.7	176.7	217.7	245.8	273.8	318.8

REGISTRO DE DATOS PARA LA PRUEBA BIOLÓGICA NUTRICIONAL												
Rata: <u>Wistar</u> Sexo: <u>M</u> Peso inicial (Pi): <u>49.0 g</u> Dieta: <u>Cas 5</u> Fecha: <u>08/Nov/10</u>												
Tiempo (días)	2	4	9	10	12	15	17	19	22	24	26	28
Peso animal ($P_{\text{día}}$)	53.5	63.4	81.0	86.0	90.0	99.4	105.5	113.4	129.2	137.0	147.2	161.0
Incremento acumulado ($P_{\text{día}}-P_i$)	4.5	14.4	32.0	37.0	41.0	50.4	56.5	64.4	80.2	88.0	98.2	112.0
Alimento inicial (I)	233.9	248.7	267.5	233.8	252.0	268.2	251.7	252.8	278.9	253.1	251.2	269.0
Alimento final (F)	218.7	227.5	222.7	222.0	228.5	231.0	224.7	225.0	233.4	225.5	220.4	224.7
Alimento ingerido ($AI=I-F$)	15.2	21.2	44.8	11.8	23.5	37.2	27.0	27.8	45.5	98.2	30.8	44.3
Alimento acumulado ($\sum AI$) _{día}	15.2	36.4	81.2	93.0	116.5	153.7	180.7	208.5	254.0	352.2	383.0	427.3

REGISTRO DE DATOS PARA LA PRUEBA BIOLÓGICA NUTRICIONAL												
Rata: <u>Wistar</u> Sexo: <u>M</u> Peso inicial (Pi): <u>55.5 g</u> Dieta: <u>Cas 6</u> Fecha: <u>08/Nov/10</u>												
Tiempo (días)	2	4	9	10	12	15	17	19	22	24	26	28
Peso animal ($P_{\text{día}}$)	55.3	66.8	78.4	84.3	87.0	96.5	101.2	108.5	106.1	126.0	131.5	142.7
Incremento acumulado ($P_{\text{día}}-P_i$)	-0.2	11.3	22.9	28.8	31.5	41.0	45.7	53.0	50.6	70.5	76.0	87.2
Alimento inicial (I)	232.0	251.3	272.5	236.6	253.0	269.3	250.0	259.0	313.7	284.1	272.8	276.4
Alimento final (F)	220.5	230.2	226.6	223.7	230.6	229.5	223.7	230.9	273.2	254.9	245.0	234.3
Alimento ingerido ($AI=I-F$)	11.5	21.1	45.9	12.9	22.4	39.8	26.3	28.1	40.5	29.2	27.8	42.1
Alimento acumulado ($\sum AI$) _{día}	11.5	32.6	78.5	91.4	113.8	153.6	179.9	208.0	248.5	277.7	305.5	347.6

LOTE 2. Dieta a base de caseína adicionada con citrato de calcio

REGISTRO DE DATOS PARA LA PRUEBA BIOLÓGICA NUTRICIONAL												
Rata: <u>Wistar</u> Sexo: <u>M</u> Peso inicial (Pi): <u>35.7 g</u> Dieta: <u>Cas-CCa 1</u> Fecha: <u>08/Nov/10</u>												
Tiempo (días)	2	4	9	10	12	15	17	19	22	24	26	28
Peso animal (P _{día})	49.6	45.3	56.0	59.5	66.0	75.7	78.5	84.8	92.9	98.7	105.8	116.6
Incremento acumulado (P _{día} -Pi)	13.9	9.6	20.3	23.8	30.3	40.0	42.8	49.1	57.2	63.0	70.1	80.9
Alimento inicial (I)	280.3	295.7	325.5	300.7	312.7	332.5	311.1	320.7	344.6	315.0	311.3	317.7
Alimento final (F)	270.9	281.0	294.3	292.1	294.3	304.3	291.9	299.6	310.6	291.8	288.8	281.6
Alimento ingerido (AI=I-F)	9.4	14.7	31.2	8.6	18.4	28.2	19.2	21.1	34.0	23.2	22.5	36.1
Alimento acumulado (Σ AI) _{día}	9.4	24.1	55.3	63.9	82.3	110.5	129.7	150.8	184.8	208.0	230.5	266.6

REGISTRO DE DATOS PARA LA PRUEBA BIOLÓGICA NUTRICIONAL												
Rata: <u>Wistar</u> Sexo: <u>M</u> Peso inicial (Pi): <u>37.6 g</u> Dieta: <u>Cas-CCa 2</u> Fecha: <u>08/Nov/10</u>												
Tiempo (días)	2	4	9	10	12	15	17	19	22	24	26	28
Peso animal (P _{día})	42.8	47.7	59.3	63.5	71.5	80.5	84.8	88.4	97.1	101.8	107.2	120.0
Incremento acumulado (P _{día} -Pi)	5.2	10.1	21.7	25.9	33.9	42.9	47.2	50.8	59.5	64.2	69.6	82.4
Alimento inicial (I)	235.8	249.6	278.4	253.2	261.4	276.7	256.9	266.1	298.6	267.9	266.9	266.0
Alimento final (F)	225.4	236.2	247.3	243.7	241.0	246.9	236.9	245.4	262.5	245.2	242.7	226.8
Alimento ingerido (AI=I-F)	10.4	13.4	31.1	9.5	20.4	29.8	20.0	20.7	36.1	22.7	24.2	39.2
Alimento acumulado (Σ AI) _{día}	10.4	23.8	54.9	64.4	84.8	114.6	134.6	155.3	191.4	214.1	238.3	277.5

REGISTRO DE DATOS PARA LA PRUEBA BIOLÓGICA NUTRICIONAL												
Rata: <u>Wistar</u> Sexo: <u>M</u> Peso inicial (Pi): <u>47.4 g</u> Dieta: <u>Cas-CCa 3</u> Fecha: <u>08/Nov/10</u>												
Tiempo (días)	2	4	9	10	12	15	17	19	22	24	26	28
Peso animal ($P_{\text{día}}$)	48.6	58.1	71.5	74.5	78.3	85.9	88.7	94.5	101.4	111.5	116.9	129.0
Incremento acumulado ($P_{\text{día}}-P_i$)	1.2	10.7	24.1	27.1	30.9	38.5	41.3	47.1	54.0	64.1	69.5	81.6
Alimento inicial (I)	234.5	247.6	273.4	245.2	260.7	276.5	261.5	271.0	308.1	276.9	266.8	276.1
Alimento final (F)	222.9	229.2	234.1	234.8	241.1	247.7	241.8	249.9	275.4	251.7	243.9	237.9
Alimento ingerido (AI=I-F)	11.6	18.4	39.3	10.4	19.6	28.8	19.7	21.1	32.7	25.2	22.9	38.2
Alimento acumulado (ΣAI) _{día}	11.6	30.0	69.3	79.7	99.3	128.1	147.8	168.9	201.6	226.8	249.7	287.9

REGISTRO DE DATOS PARA LA PRUEBA BIOLÓGICA NUTRICIONAL												
Rata: <u>Wistar</u> Sexo: <u>M</u> Peso inicial (Pi): <u>48.0 g</u> Dieta: <u>Cas-CCa 4</u> Fecha: <u>08/Nov/10</u>												
Tiempo (días)	2	4	9	10	12	15	17	19	22	24	26	28
Peso animal ($P_{\text{día}}$)	47.6	57.7	69.0	71.5	74.0	82.9	85.4	92.5	102.7	111.2	119.5	119.8
Incremento acumulado ($P_{\text{día}}-P_i$)	-0.4	9.7	21.0	23.5	26.0	34.9	37.4	44.5	54.7	63.2	71.5	71.8
Alimento inicial (I)	277.8	292.9	215.5	287.7	300.6	315.6	297.1	300.9	326.5	297.2	304.2	309.3
Alimento final (F)	266.0	272.6	278.5	276.4	281.3	281.3	276.4	275.8	287.7	270.5	276.8	271.2
Alimento ingerido (AI=I-F)	11.8	20.3	37.0	11.3	19.3	34.3	20.7	25.1	38.8	26.7	27.4	38.1
Alimento acumulado (ΣAI) _{día}	11.8	32.1	69.1	80.4	99.7	134.0	154.7	179.8	218.6	245.3	272.7	310.8

REGISTRO DE DATOS PARA LA PRUEBA BIOLÓGICA NUTRICIONAL												
Rata: <u>Wistar</u> Sexo: <u>M</u> Peso inicial (Pi): <u>50.2 g</u> Dieta: <u>Cas-CCa 5</u> Fecha: <u>08/Nov/10</u>												
Tiempo (días)	2	4	9	10	12	15	17	19	22	24	26	28
Peso animal ($P_{\text{día}}$)	49.6	61.4	74.0	77.0	80.0	88.0	91.0	99.1	109.6	118.9	128.4	137.1
Incremento acumulado ($P_{\text{día}}-P_i$)	-0.6	11.2	23.8	26.8	29.8	37.8	40.8	48.9	59.4	68.7	78.2	86.9
Alimento inicial (I)	231.8	249.9	273.8	245.5	258.0	276.8	255.1	256.8	290.8	260.0	262.1	263.9
Alimento final (F)	220.6	230.3	236.0	235.5	241.5	246.2	234.4	232.5	254.1	231.3	232.3	221.2
Alimento ingerido (AI=I-F)	11.2	19.6	37.8	10.0	16.5	30.6	20.7	24.3	36.7	28.7	29.8	42.7
Alimento acumulado (ΣAI) _{día}	11.2	30.8	68.6	78.6	95.1	125.7	146.4	170.7	207.4	236.1	265.9	308.6

REGISTRO DE DATOS PARA LA PRUEBA BIOLÓGICA NUTRICIONAL												
Rata: <u>Wistar</u> Sexo: <u>M</u> Peso inicial (Pi): <u>51.9 g</u> Dieta: <u>Cas-CCa 6</u> Fecha: <u>08/Nov/10</u>												
Tiempo (días)	2	4	9	10	12	15	17	19	22	24	26	28
Peso animal ($P_{\text{día}}$)	53.8	65.2	79.8	82.5	94.5	101.0	118.1	126.9	135.5	143.6	149.3	168.9
Incremento acumulado ($P_{\text{día}}-P_i$)	1.9	13.3	27.9	30.6	42.6	49.1	66.2	75.0	83.6	91.7	97.4	117.0
Alimento inicial (I)	265.2	283.0	312.3	276.9	289.8	300.8	286.0	303.3	321.1	289.0	297.8	305.2
Alimento final (F)	255.3	266.0	271.3	266.8	263.0	255.6	256.4	270.6	276.0	258.3	267.1	256.5
Alimento ingerido (AI=I-F)	9.9	17.0	41.0	10.1	26.8	45.2	29.6	32.7	45.1	30.7	30.7	48.7
Alimento acumulado (ΣAI) _{día}	9.9	26.9	67.9	78.0	104.8	150.0	179.6	212.3	257.4	288.1	318.8	367.5

LOTE 3. Dieta a base de caseína adicionada con fumarato ferroso

REGISTRO DE DATOS PARA LA PRUEBA BIOLÓGICA NUTRICIONAL												
Rata: <u>Wistar</u> Sexo: <u>M</u> Peso inicial (Pi): <u>35.8 g</u> Dieta: <u>Cas-FFe 1</u> Fecha: <u>08/Nov/10</u>												
Tiempo (días)	2	4	9	10	12	15	17	19	22	24	26	28
Peso animal ($P_{\text{día}}$)	41.5	44.9	57.0	59.0	66.0	76.1	78.8	82.0	88.3	95.8	102.0	114.5
Incremento acumulado ($P_{\text{día}} - P_i$)	5.7	9.1	21.2	23.2	30.2	40.3	43.0	46.2	52.5	60.0	66.2	78.7
Alimento inicial (I)	269.8	289.7	326.0	296.0	304.0	321.5	297.7	299.4	333.5	306.2	303.8	303.0
Alimento final (F)	260.7	275.3	292.9	287.8	284.1	291.8	279.0	281.0	302.3	282.1	279.9	265.3
Alimento ingerido ($AI = I - F$)	9.1	14.4	33.1	8.2	19.9	29.7	18.7	18.4	31.2	24.1	23.9	37.7
Alimento acumulado ($\sum AI$) _{día}	9.1	23.5	56.6	64.8	84.7	114.4	133.1	151.5	182.7	206.8	230.7	268.4

REGISTRO DE DATOS PARA LA PRUEBA BIOLÓGICA NUTRICIONAL												
Rata: <u>Wistar</u> Sexo: <u>M</u> Peso inicial (Pi): <u>36.2 g</u> Dieta: <u>Cas-FFe 2</u> Fecha: <u>08/Nov/10</u>												
Tiempo (días)	2	4	9	10	12	15	17	19	22	24	26	28
Peso animal ($P_{\text{día}}$)	41.6	46.3	57.5	60.5	66.2	74.5	81.0	85.0	89.9	94.6	100.5	108.0
Incremento acumulado ($P_{\text{día}} - P_i$)	5.4	10.1	21.3	24.3	30.0	38.3	44.8	48.8	53.7	58.4	64.3	71.8
Alimento inicial (I)	231.6	253.1	290.8	264.7	278.9	285.4	266.1	269.1	301.4	271.1	268.3	269.0
Alimento final (F)	222.7	240.7	260.3	256.5	260.8	258.4	243.6	250.7	270.6	249.3	246.4	234.5
Alimento ingerido ($AI = I - F$)	8.9	12.4	30.5	8.2	18.1	27.0	22.5	18.4	30.8	21.8	21.8	34.5
Alimento acumulado ($\sum AI$) _{día}	8.9	21.3	51.8	60.0	78.1	105.1	127.6	146.0	176.8	198.6	220.4	254.9

REGISTRO DE DATOS PARA LA PRUEBA BIOLÓGICA NUTRICIONAL												
Rata: <u>Wistar</u> Sexo: <u>M</u> Peso inicial (Pi): <u>47.5 g</u> Dieta: <u>Cas-FFe 3</u> Fecha: <u>08/Nov/10</u>												
Tiempo (días)	2	4	9	10	12	15	17	19	22	24	26	28
Peso animal ($P_{\text{día}}$)	49.4	59.6	72.0	74.7	79.7	86.5	91.5	99.0	110.3	118.1	125.3	138.4
Incremento acumulado ($P_{\text{día}}-P_i$)	1.9	12.1	24.5	27.2	32.2	39.0	44.0	51.5	62.8	70.6	77.8	90.9
Alimento inicial (I)	231.9	249.5	278.8	245.6	256.9	274.3	254.0	257.0	284.6	250.6	260.4	262.3
Alimento final (F)	220.2	229.9	240.3	235.5	234.7	244.5	232.0	233.7	243.5	223.9	232.5	221.8
Alimento ingerido (AI=I-F)	11.7	19.6	38.5	10.1	22.2	29.8	22.0	23.3	41.1	26.7	27.9	40.5
Alimento acumulado (ΣAI) _{día}	11.7	31.3	69.8	79.9	102.1	131.9	153.9	177.2	218.3	245.0	272.9	313.4

REGISTRO DE DATOS PARA LA PRUEBA BIOLÓGICA NUTRICIONAL												
Rata: <u>Wistar</u> Sexo: <u>M</u> Peso inicial (Pi): <u>47.5 g</u> Dieta: <u>Cas-FFe 4</u> Fecha: <u>08/Nov/10</u>												
Tiempo (días)	2	4	9	10	12	15	17	19	22	24	26	28
Peso animal ($P_{\text{día}}$)	50.0	58.1	69.0	73.0	76.5	83.6	89.7	96.1	108.6	117.1	124.4	106.1
Incremento acumulado ($P_{\text{día}}-P_i$)	2.5	10.6	21.5	25.5	29.0	36.1	42.2	48.6	61.1	69.6	76.9	58.6
Alimento inicial (I)	269.0	287.9	326.3	295.9	303.3	314.9	295.9	297.2	325.4	287.7	298.9	301.4
Alimento final (F)	257.5	270.2	292.4	287.0	285.1	285.4	274.5	273.9	282.2	261.9	271.9	264.6
Alimento ingerido (AI=I-F)	11.5	17.7	33.9	8.9	18.2	29.5	21.4	23.3	43.2	25.8	27.0	36.8
Alimento acumulado (ΣAI) _{día}	11.5	29.2	63.1	72.0	90.2	119.7	141.1	164.4	207.6	233.4	260.4	297.2

REGISTRO DE DATOS PARA LA PRUEBA BIOLÓGICA NUTRICIONAL												
Rata: <u>Wistar</u> Sexo: <u>M</u> Peso inicial (Pi): <u>50.3 g</u> Dieta: <u>Cas-FFe 5</u> Fecha: <u>08/Nov/10</u>												
Tiempo (días)	2	4	9	10	12	15	17	19	22	24	26	28
Peso animal ($P_{\text{día}}$)	54.5	62.9	78.0	82.5	87.7	99.0	101.5	105.4	115.9	120.0	127.9	141.6
Incremento acumulado ($P_{\text{día}}-P_i$)	4.2	12.6	27.7	32.2	37.4	48.7	51.2	55.1	65.6	69.7	77.6	91.3
Alimento inicial (I)	268.4	287.1	318.2	285.4	295.3	312.0	289.1	289.1	326.8	292.4	296.6	301.3
Alimento final (F)	257.8	268.0	278.9	275.0	273.8	276.1	267.5	266.9	287.9	272.1	269.2	258.1
Alimento ingerido (AI=I-F)	10.6	19.1	39.3	10.4	21.5	35.9	21.6	22.2	38.9	20.3	27.4	43.2
Alimento acumulado (ΣAI) _{día}	10.6	29.7	69.0	79.4	100.9	136.8	158.4	180.6	219.5	239.8	267.2	310.4

REGISTRO DE DATOS PARA LA PRUEBA BIOLÓGICA NUTRICIONAL												
Rata: <u>Wistar</u> Sexo: <u>M</u> Peso inicial (Pi): <u>50.5 g</u> Dieta: <u>Cas-FFe 6</u> Fecha: <u>08/Nov/10</u>												
Tiempo (días)	2	4	9	10	12	15	17	19	22	24	26	28
Peso animal ($P_{\text{día}}$)	50.6	60.2	70.0	73.5	77.8	84.3	85.5	91.0	98.7	104.5	111.6	119.3
Incremento acumulado ($P_{\text{día}}-P_i$)	0.1	9.7	19.5	23.0	27.3	33.8	35.0	40.5	48.2	54.0	61.1	68.8
Alimento inicial (I)	232.0	250.9	285.2	258.1	268.9	289.9	271.9	274.0	300.9	270.8	269.9	283.6
Alimento final (F)	221.1	234.2	252.6	249.8	250.6	261.7	254.0	254.6	269.9	250.2	249.8	251.2
Alimento ingerido (AI=I-F)	10.9	16.7	32.6	8.3	18.3	28.2	17.9	19.4	31.0	20.6	20.1	32.4
Alimento acumulado (ΣAI) _{día}	10.9	27.6	60.2	68.5	86.8	115.0	132.9	152.3	183.3	203.9	224.0	256.4

LOTE 4. Dieta a base de avena

REGISTRO DE DATOS PARA LA PRUEBA BIOLÓGICA NUTRICIONAL												
Rata: <u>Wistar</u> Sexo: <u>M</u> Peso inicial (Pi): <u>34.1 g</u> Dieta: <u>Av 1</u> Fecha: <u>08/Nov/10</u>												
Tiempo (días)	2	4	9	10	12	15	17	19	22	24	26	28
Peso animal (P _{día})	38.1	41.1	53.8	54.5	59.0	68.5	75.3	82.8	88.1	97.9	101.9	113.0
Incremento acumulado (P _{día} -Pi)	4.0	7.0	19.7	20.4	24.9	34.4	41.2	48.7	54.0	63.8	67.8	78.9
Alimento inicial (I)	283.5	289.8	314.4	288.8	301.0	318.8	299.0	315.9	343.7	317.7	311.3	320.8
Alimento final (F)	275.3	277.0	277.8	281.2	279.0	288.2	274.8	293.0	310.3	291.7	287.1	283.4
Alimento ingerido (AI=I-F)	8.2	12.8	36.6	7.6	22.0	30.6	24.2	22.9	33.4	26.0	24.2	37.4
Alimento acumulado (Σ AI) _{día}	8.2	21.0	57.6	65.2	87.2	117.8	142.0	164.9	198.3	224.3	248.5	285.9

REGISTRO DE DATOS PARA LA PRUEBA BIOLÓGICA NUTRICIONAL												
Rata: <u>Wistar</u> Sexo: <u>M</u> Peso inicial (Pi): <u>37.6 g</u> Dieta: <u>Av 2</u> Fecha: <u>08/Nov/10</u>												
Tiempo (días)	2	4	9	10	12	15	17	19	22	24	26	28
Peso animal (P _{día})	42.0	45.0	54.7	58.5	65.1	74.5	81.3	85.6	96.7	104.8	109.9	122.5
Incremento acumulado (P _{día} -Pi)	4.4	7.4	17.1	20.9	27.5	36.9	43.7	48.0	59.1	67.2	72.3	84.9
Alimento inicial (I)	269.6	284.0	311.1	282.2	291.4	300.5	287.7	291.9	322.4	292.0	310.4	317.3
Alimento final (F)	260.3	270.1	273.8	271.4	268.1	267.0	262.1	269.1	280.1	262.4	279.5	272.6
Alimento ingerido (AI=I-F)	9.3	13.9	37.3	10.8	23.3	33.5	25.6	22.8	42.3	29.6	30.9	44.7
Alimento acumulado (Σ AI) _{día}	9.3	23.2	60.5	71.3	94.6	128.1	153.7	176.5	218.8	248.4	279.3	324.0

REGISTRO DE DATOS PARA LA PRUEBA BIOLÓGICA NUTRICIONAL												
Rata: <u>Wistar</u> Sexo: <u>M</u> Peso inicial (Pi): <u>47.3 g</u> Dieta: <u>Av 3</u> Fecha: <u>08/Nov/10</u>												
Tiempo (días)	2	4	9	10	12	15	17	19	22	24	26	28
Peso animal ($P_{\text{día}}$)	48.5	55.6	67.7	70.0	76.5	88.1	94.0	95.7	107.2	114.7	120.0	129.8
Incremento acumulado ($P_{\text{día}}-Pi$)	1.2	8.3	20.4	22.7	29.2	40.8	46.7	48.4	59.9	67.4	72.7	82.5
Alimento inicial (I)	269.1	282.8	312.4	281.3	290.4	305.4	285.7	289.1	314.9	287.7	287.1	305.7
Alimento final (F)	258.3	263.6	271.9	270.5	267.7	281.6	261.4	267.2	275.3	261.3	260.9	264.6
Alimento ingerido ($AI=I-F$)	10.8	19.2	40.5	10.8	22.7	23.8	24.3	21.9	39.6	26.4	26.2	41.1
Alimento acumulado (ΣAI) _{día}	10.8	30.0	70.5	81.3	104.0	127.8	152.1	174.0	213.6	240.0	266.2	307.3

REGISTRO DE DATOS PARA LA PRUEBA BIOLÓGICA NUTRICIONAL												
Rata: <u>Wistar</u> Sexo: <u>M</u> Peso inicial (Pi): <u>48.3 g</u> Dieta: <u>Av 4</u> Fecha: <u>08/Nov/10</u>												
Tiempo (días)	2	4	9	10	12	15	17	19	22	24	26	28
Peso animal ($P_{\text{día}}$)	50.0	59.5	71.0	73.0	78.4	88.5	95.8	105.1	114.5	120.2	127.2	134.9
Incremento acumulado ($P_{\text{día}}-Pi$)	1.7	11.2	22.7	24.7	30.1	40.2	47.5	56.8	66.2	71.9	78.9	86.6
Alimento inicial (I)	266.4	277.8	301.6	275.6	288.3	302.9	286.1	295.4	319.3	290.2	286.4	302.8
Alimento final (F)	255.5	258.9	262.2	266.5	267.7	268.2	261.2	269.1	279.0	263.7	258.7	263.9
Alimento ingerido ($AI=I-F$)	10.9	18.9	39.4	9.1	20.6	34.7	24.9	26.3	40.3	26.5	27.7	38.9
Alimento acumulado (ΣAI) _{día}	10.9	29.8	69.2	78.3	98.9	133.6	158.5	184.8	225.1	251.6	279.3	318.2

REGISTRO DE DATOS PARA LA PRUEBA BIOLÓGICA NUTRICIONAL												
Rata: <u>Wistar</u> Sexo: <u>M</u> Peso inicial (Pi): <u>50.0 g</u> Dieta: <u>Av 5</u> Fecha: <u>08/Nov/10</u>												
Tiempo (días)	2	4	9	10	12	15	17	19	22	24	26	28
Peso animal ($P_{\text{día}}$)	47.2	57.8	76.0	81.7	89.2	100.0	108.7	115.0	124.8	132.8	140.7	149.9
Incremento acumulado ($P_{\text{día}}-Pi$)	-2.8	7.8	26.0	31.7	39.2	50.0	58.7	65.0	74.8	82.8	90.7	99.9
Alimento inicial (I)	231.5	249.2	273.2	244.3	249.8	270.6	250.8	260.4	281.7	255.5	257.9	267.1
Alimento final (F)	221.2	227.3	223.5	230.5	221.9	229.0	222.1	232.0	241.1	224.7	228.1	221.2
Alimento ingerido ($AI=I-F$)	10.3	21.9	49.7	13.8	27.9	41.6	28.7	28.4	40.6	30.8	29.8	45.9
Alimento acumulado (ΣAI) _{día}	10.3	32.2	81.9	95.7	123.6	165.2	193.9	222.3	262.9	293.7	323.5	369.4

REGISTRO DE DATOS PARA LA PRUEBA BIOLÓGICA NUTRICIONAL												
Rata: <u>Wistar</u> Sexo: <u>M</u> Peso inicial (Pi): <u>52.4 g</u> Dieta: <u>Av 6</u> Fecha: <u>08/Nov/10</u>												
Tiempo (días)	2	4	9	10	12	15	17	19	22	24	26	28
Peso animal ($P_{\text{día}}$)	42.0	63.4	82.3	86.3	94.5	108.0	112.5	122.0	133.3	142.5	150.0	157.6
Incremento acumulado ($P_{\text{día}}-Pi$)	-10.4	11.0	29.9	33.9	42.1	55.6	60.1	69.6	80.9	90.1	97.6	105.2
Alimento inicial (I)	270.0	285.8	318.0	275.0	291.3	303.5	288.6	299.3	321.2	291.1	307.6	302.2
Alimento final (F)	259.3	262.3	264.1	261.6	261.4	260.6	260.2	269.0	273.5	259.3	274.3	259.1
Alimento ingerido ($AI=I-F$)	10.7	23.5	53.9	13.4	29.9	42.9	28.4	30.3	47.7	31.8	33.3	43.1
Alimento acumulado (ΣAI) _{día}	10.7	34.2	88.1	101.5	131.4	174.3	202.7	233.0	280.7	312.5	345.8	388.9

LOTE 5. Dieta a base de avena con citrato de calcio

REGISTRO DE DATOS PARA LA PRUEBA BIOLÓGICA NUTRICIONAL												
Rata: <u>Wistar</u> Sexo: <u>M</u> Peso inicial (Pi): <u>29.7 g</u> Dieta: <u>Av-CCa 1</u> Fecha: <u>08/Nov/10</u>												
Tiempo (días)	2	4	9	10	12	15	17	19	22	24	26	28
Peso animal ($P_{\text{día}}$)	31.0	36.8	46.5	49.0	56.5	65.0	71.3	77.5	87.4	92.5	98.5	106.7
Incremento acumulado ($P_{\text{día}}-P_i$)	1.3	7.1	16.8	19.3	26.8	35.3	41.6	47.8	57.7	62.8	68.8	77.0
Alimento inicial (I)	269.6	292.9	322.6	294.8	300.1	303.8	284.9	292.0	319.0	298.8	297.1	307.6
Alimento final (F)	263.3	281.9	290.2	285.4	278.7	271.8	262.6	269.3	279.0	277.0	272.1	274.3
Alimento ingerido ($Al=I-F$)	6.3	11.0	32.4	9.4	21.4	32.0	22.3	22.7	40.0	21.8	25.0	33.3
Alimento acumulado (ΣAl) _{día}	6.3	17.3	49.7	59.1	80.5	112.5	134.8	157.5	197.5	219.3	244.3	277.6

REGISTRO DE DATOS PARA LA PRUEBA BIOLÓGICA NUTRICIONAL												
Rata: <u>Wistar</u> Sexo: <u>M</u> Peso inicial (Pi): <u>39.3 g</u> Dieta: <u>Av-CCa 2</u> Fecha: <u>08/Nov/10</u>												
Tiempo (días)	2	4	9	10	12	15	17	19	22	24	26	28
Peso animal ($P_{\text{día}}$)	37.0	41.1	50.5	54.0	59.0	67.7	72.0	79.0	88.0	93.6	100.7	111.0
Incremento acumulado ($P_{\text{día}}-P_i$)	-2.3	1.8	11.2	14.7	19.7	28.4	32.7	39.7	48.7	54.3	61.4	71.7
Alimento inicial (I)	233.0	259.0	288.9	262.8	264.3	282.8	264.6	255.5	285.9	265.1	260.2	270.2
Alimento final (F)	229.7	247.8	258.1	253.9	246.1	255.1	244.7	235.1	253.0	241.3	236.6	234.6
Alimento ingerido ($Al=I-F$)	3.3	11.2	30.8	8.9	18.2	27.7	19.9	20.4	32.9	23.8	23.6	35.6
Alimento acumulado (ΣAl) _{día}	3.3	14.5	45.3	54.2	72.4	100.1	120.0	140.4	173.3	197.1	220.7	256.3

REGISTRO DE DATOS PARA LA PRUEBA BIOLÓGICA NUTRICIONAL												
Rata: <u>Wistar</u> Sexo: <u>M</u> Peso inicial (Pi): <u>46.2 g</u> Dieta: <u>Av-CCa 3</u> Fecha: <u>08/Nov/10</u>												
Tiempo (días)	2	4	9	10	12	15	17	19	22	24	26	28
Peso animal ($P_{\text{día}}$)	45.3	54.3	65.7	69.5	75.0	71.5	89.5	96.8	94.6	110.1	115.3	121.2
Incremento acumulado ($P_{\text{día}}-Pi$)	-0.9	8.1	19.5	23.3	28.8	25.3	43.3	50.6	48.4	63.9	69.1	75.0
Alimento inicial (I)	267.8	288.0	302.0	273.4	281.1	300.1	284.7	290.9	315.4	298.1	293.3	301.6
Alimento final (F)	257.4	268.9	261.7	262.1	258.1	274.5	257.4	264.8	288.7	267.6	264.5	263.4
Alimento ingerido ($AI=I-F$)	10.4	19.1	40.3	11.3	23.0	25.6	27.3	26.1	26.7	30.5	28.8	38.2
Alimento acumulado (ΣAI) _{día}	10.4	29.5	69.8	81.1	104.1	129.7	157.0	183.1	209.8	240.3	269.1	307.3

REGISTRO DE DATOS PARA LA PRUEBA BIOLÓGICA NUTRICIONAL												
Rata: <u>Wistar</u> Sexo: <u>M</u> Peso inicial (Pi): <u>48.5 g</u> Dieta: <u>Av-CCa 4</u> Fecha: <u>08/Nov/10</u>												
Tiempo (días)	2	4	9	10	12	15	17	19	22	24	26	28
Peso animal ($P_{\text{día}}$)	47.5	57.3	71.0	77.5	83.6	80.5	96.0	106.2	116.1	123.9	131.2	135.9
Incremento acumulado ($P_{\text{día}}-Pi$)	-1.0	8.8	22.5	29.0	35.1	32.0	47.5	57.7	67.6	75.4	82.7	87.4
Alimento inicial (I)	235.5	255.1	269.7	239.6	260.0	272.6	250.4	260.4	290.1	259.9	259.5	260.9
Alimento final (F)	224.5	235.1	225.0	225.9	234.2	240.9	224.6	230.8	247.0	230.9	230.3	224.6
Alimento ingerido ($AI=I-F$)	11.0	20.0	44.7	13.7	25.8	31.7	25.8	29.6	43.1	29.0	29.2	36.3
Alimento acumulado (ΣAI) _{día}	11.0	31.0	75.7	89.4	115.2	146.9	172.7	202.3	245.4	274.4	303.6	339.9

REGISTRO DE DATOS PARA LA PRUEBA BIOLÓGICA NUTRICIONAL												
Rata: <u>Wistar</u> Sexo: <u>M</u> Peso inicial (Pi): <u>49.4 g</u> Dieta: <u>Av-CCa 5</u> Fecha: <u>08/Nov/10</u>												
Tiempo (días)	2	4	9	10	12	15	17	19	22	24	26	28
Peso animal ($P_{\text{día}}$)	50.0	57.8	71.5	74.5	79.0	91.0	94.5	101.9	111.4	118.2	122.3	129.3
Incremento acumulado ($P_{\text{día}}-P_i$)	0.6	8.4	22.1	25.1	29.6	41.6	45.1	52.5	62.0	68.8	72.9	79.9
Alimento inicial (I)	229.4	249.7	271.3	235.1	259.6	270.8	244.7	255.7	280.8	255.6	255.3	260.6
Alimento final (F)	219.3	230.3	225.0	224.6	237.0	233.7	221.4	230.4	240.9	230.2	231.0	223.5
Alimento ingerido (AI=I-F)	10.1	19.4	46.3	10.5	22.6	37.1	23.3	25.3	39.9	25.4	24.3	37.1
Alimento acumulado (ΣAI) _{día}	10.1	29.5	75.8	86.3	108.9	146.0	169.3	194.6	234.5	259.9	284.2	321.3

REGISTRO DE DATOS PARA LA PRUEBA BIOLÓGICA NUTRICIONAL												
Rata: <u>Wistar</u> Sexo: <u>M</u> Peso inicial (Pi): <u>53.9 g</u> Dieta: <u>Av-CCa 6</u> Fecha: <u>08/Nov/10</u>												
Tiempo (días)	2	4	9	10	12	15	17	19	22	24	26	28
Peso animal ($P_{\text{día}}$)	54.1	62.0	76.0	79.4	86.0	94.3	96.5	109.4	117.0	123.9	129.2	131.2
Incremento acumulado ($P_{\text{día}}-P_i$)	0.2	8.1	22.1	25.5	32.1	40.4	42.6	55.5	63.1	70.0	75.3	77.3
Alimento inicial (I)	239.2	258.4	275.8	240.8	265.5	275.2	250.6	269.1	292.7	264.0	266.9	261.9
Alimento final (F)	228.1	237.3	230.8	230.2	240.2	240.7	228.1	239.8	252.0	236.0	240.3	228.2
Alimento ingerido (AI=I-F)	11.1	21.1	45.0	10.6	25.3	34.5	22.5	29.3	40.7	28.0	26.6	33.7
Alimento acumulado (ΣAI) _{día}	11.1	32.2	77.2	87.8	113.1	147.6	170.1	199.4	240.1	268.1	294.7	328.4

LOTE 6. Dieta a base de avena con fumarato ferroso

REGISTRO DE DATOS PARA LA PRUEBA BIOLÓGICA NUTRICIONAL												
Rata: <u>Wistar</u> Sexo: <u>M</u> Peso inicial (Pi): <u>30.2 g</u> Dieta: <u>Av-F Fe 1</u> Fecha: <u>08/Nov/10</u>												
Tiempo (días)	2	4	9	10	12	15	17	19	22	24	26	28
Peso animal ($P_{\text{día}}$)	33.5	35.2	44.0	46.5	49.8	58.0	64.2	68.7	71.4	79.8	84.7	92.4
Incremento acumulado ($P_{\text{día}}-P_i$)	3.3	5.0	13.8	16.3	19.6	27.8	34.0	38.5	41.2	49.6	54.5	62.2
Alimento inicial (I)	271.3	294.2	320.8	295.0	307.2	325.1	307.6	306.5	335.4	308.2	301.5	292.5
Alimento final (F)	264.4	282.5	290.2	287.1	290.7	298.6	287.6	287.1	305.9	287.1	278.7	260.8
Alimento ingerido ($Al=I-F$)	6.9	11.7	30.6	7.9	16.5	26.5	20.0	19.4	29.5	21.1	22.8	31.7
Alimento acumulado (ΣAl) _{día}	6.9	18.6	49.2	57.1	73.6	100.1	120.1	139.5	169.0	190.1	212.9	244.6

REGISTRO DE DATOS PARA LA PRUEBA BIOLÓGICA NUTRICIONAL												
Rata: <u>Wistar</u> Sexo: <u>M</u> Peso inicial (Pi): <u>39.0 g</u> Dieta: <u>Av-FFe 2</u> Fecha: <u>08/Nov/10</u>												
Tiempo (días)	2	4	9	10	12	15	17	19	22	24	26	28
Peso animal ($P_{\text{día}}$)	43.5	48.2	58.7	62.0	66.5	76.0	80.2	88.3	99.2	107.5	112.7	119.5
Incremento acumulado ($P_{\text{día}}-P_i$)	4.5	9.2	19.7	23.0	27.5	37.0	41.2	49.3	60.2	68.5	73.7	80.5
Alimento inicial (I)	271.5	292.9	325.1	291.2	299.2	305.6	283.4	296.6	322.3	292.8	294.7	298.7
Alimento final (F)	262.2	276.4	286.1	280.8	279.4	272.9	261.5	271.8	282.4	265.5	266.7	260.9
Alimento ingerido ($Al=I-F$)	9.3	16.5	39.0	10.4	19.8	32.7	21.9	24.8	39.9	27.3	28.0	37.8
Alimento acumulado (ΣAl) _{día}	9.3	25.8	64.8	75.2	95.0	127.7	149.6	174.4	214.3	241.6	269.6	307.4

REGISTRO DE DATOS PARA LA PRUEBA BIOLÓGICA NUTRICIONAL												
Rata: <u>Wistar</u> Sexo: <u>M</u> Peso inicial (Pi): <u>46.8 g</u> Dieta: <u>Av-FFe 3</u> Fecha: <u>08/Nov/10</u>												
Tiempo (días)	2	4	9	10	12	15	17	19	22	24	26	28
Peso animal ($P_{\text{día}}$)	51.0	57.6	71.0	73.5	81.5	91.0	95.0	104.6	114.0	120.0	126.4	133.0
Incremento acumulado ($P_{\text{día}}-Pi$)	4.2	10.8	24.2	26.7	34.7	44.2	48.2	57.8	67.2	73.2	79.6	86.2
Alimento inicial (I)	269.6	289.2	315.2	281.3	290.3	306.0	282.0	304.0	326.2	295.5	296.2	297.7
Alimento final (F)	259.5	272.2	272.9	270.5	265.3	269.9	259.0	275.8	283.1	268.0	268.1	259.1
Alimento ingerido ($AI=I-F$)	10.1	17.0	42.3	10.8	25.0	36.1	23.0	28.2	43.1	27.5	28.1	38.6
Alimento acumulado (ΣAI) _{día}	10.1	27.1	69.4	80.2	105.2	141.3	164.3	192.5	235.6	263.1	291.2	329.8

REGISTRO DE DATOS PARA LA PRUEBA BIOLÓGICA NUTRICIONAL												
Rata: <u>Wistar</u> Sexo: <u>M</u> Peso inicial (Pi): <u>48.4 g</u> Dieta: <u>Av-FFe 4</u> Fecha: <u>08/Nov/10</u>												
Tiempo (días)	2	4	9	10	12	15	17	19	22	24	26	28
Peso animal ($P_{\text{día}}$)	47.0	55.7	71.5	76.0	83.6	93.5	97.6	107.3	117.4	123.6	129.6	141.1
Incremento acumulado ($P_{\text{día}}-Pi$)	-1.4	7.3	23.1	27.6	35.2	45.1	49.2	58.9	69.0	75.2	81.2	92.7
Alimento inicial (I)	233.0	252.8	274.7	238.4	256.0	270.9	246.8	279.1	293.5	261.7	263.6	266.8
Alimento final (F)	222.8	233.6	228.0	225.8	230.3	235.3	223.0	251.0	253.6	235.0	235.1	226.1
Alimento ingerido ($AI=I-F$)	10.2	19.2	46.7	12.6	25.7	35.6	23.8	28.1	39.9	26.7	28.5	40.7
Alimento acumulado (ΣAI) _{día}	10.2	29.4	76.1	88.7	114.4	150.0	173.8	201.9	241.8	268.5	297.0	337.7

REGISTRO DE DATOS PARA LA PRUEBA BIOLÓGICA NUTRICIONAL												
Rata: <u>Wistar</u> Sexo: <u>M</u> Peso inicial (Pi): <u>49.5 g</u> Dieta: <u>Av-FFe 5</u> Fecha: <u>08/Nov/10</u>												
Tiempo (días)	2	4	9	10	12	15	17	19	22	24	26	28
Peso animal ($P_{\text{día}}$)	48.0	56.7	71.3	76.0	81.0	91.1	96.6	104.1	106.5	117.8	123.6	132.6
Incremento acumulado ($P_{\text{día}}-P_i$)	-1.5	7.2	21.8	26.5	31.5	41.6	47.1	54.6	57.0	68.3	74.1	83.1
Alimento inicial (I)	269.9	289.9	314.8	273.5	295.2	311.5	287.5	295.4	322.0	295.3	296.5	302.5
Alimento final (F)	259.5	269.7	268.7	261.7	272.5	277.3	263.5	269.9	285.2	269.5	271.1	262.6
Alimento ingerido (AI=I-F)	10.4	20.2	46.1	11.8	22.7	34.2	24.0	25.5	36.8	25.8	25.4	39.9
Alimento acumulado (ΣAI) _{día}	10.4	30.6	76.7	88.5	111.2	145.4	169.4	194.9	231.7	257.5	282.9	322.8

REGISTRO DE DATOS PARA LA PRUEBA BIOLÓGICA NUTRICIONAL												
Rata: <u>Wistar</u> Sexo: <u>M</u> Peso inicial (Pi): <u>53.2 g</u> Dieta: <u>Av-FFe 6</u> Fecha: <u>08/Nov/10</u>												
Tiempo (días)	2	4	9	10	12	15	17	19	22	24	26	28
Peso animal ($P_{\text{día}}$)	52.5	61.4	76.7	81.0	87.6	96.8	101.0	111.0	119.5	126.0	132.0	140.0
Incremento acumulado ($P_{\text{día}}-P_i$)	-0.7	8.2	23.5	27.8	34.4	43.6	47.8	57.8	66.3	72.8	78.8	86.8
Alimento inicial (I)	273.2	292.2	313.3	277.0	299.8	312.4	286.7	305.6	326.1	295.1	296.6	313.3
Alimento final (F)	262.1	272.1	263.2	264.2	273.2	274.4	263.2	277.1	282.2	266.2	268.3	270.7
Alimento ingerido (AI=I-F)	11.1	20.1	50.1	12.8	26.6	38.0	23.5	28.5	43.9	28.9	28.3	42.6
Alimento acumulado (ΣAI) _{día}	11.1	31.2	81.3	94.1	120.7	158.7	182.2	210.7	254.6	283.5	311.8	354.4