



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**EVALUACIÓN NUTRIMENTAL DE SEMILLA DE CHIA (*Salvia
hispanica*) Y BALANCE DE HIERRO MEDIANTE MÉTODOS
BIOLÓGICOS**

TESIS

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

PRESENTA

ANEL LUGO VILLEGAS



MÉXICO, D.F.

AÑO 2013



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: M en C. Lucía Cornejo Barrera

VOCAL: QFB. María de Lourdes Gómez Ríos

SECRETARIO: M en C. Jeanette Adriana Aguilar Navarro

1er. SUPLENTE: M en C. Verónica García Saturnino

2° SUPLENTE: M en C. Argelia Sánchez Chinchillas

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA: LABORATORIO 4-C, EDIFICIO A, FACULTAD DE QUÍMICA, DEPARTAMENTO DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA, Y BIOTERIO DEL CONJUNTO E, CIUDAD UNIVERSITARIA.

ASESOR DEL TEMA:

M en C. Lucía Cornejo Barrera

SUPERVISOR TÉCNICO:

Argelia Sánchez Chinchillas

SUSTENTANTE:

Anel Lugo Villegas

Esta tesis forma parte del proyecto PAPIME PE203210 “Desarrollo y validación de métodos biológicos empleados en la determinación de la calidad nutrimental de un alimento, basado en ganancia de peso corporal, balance de nitrógeno y biodisponibilidad”.

ÍNDICE

1. Introducción.....	1
2. Objetivos.....	2
3. Antecedentes.....	3
3.1 Historia.....	3
3.2 Clasificación botánica.....	4
3.3 Condiciones de cultivo.....	5
3.4 Distribución de la chía (<i>Salvia hispanica</i>).....	6
3.5 Composición química y características nutricionales de la semilla de chía.....	6
3.5.1 Ácidos grasos de la semilla de chía.....	7
3.5.2 Contenido de proteínas y composición de aminoácidos.....	8
3.5.3 Fibra.....	9
3.5.4 Vitaminas y nutrimentos inorgánicos.....	11
3.5.5 Antioxidantes.....	12
3.5.6 Aplicaciones y potenciales usos de la semilla de chía.....	13
3.6 Hierro.....	14
3.6.1 Distribución de hierro en el cuerpo.....	15
3.6.2 Formas y fuentes de hierro.....	15
3.6.3 Funciones del hierro.....	16
3.6.4 Absorción.....	17
3.6.5 Deficiencia de hierro y enfermedades.....	18
3.6.6 Factores que influyen sobre la absorción del hierro.....	18
3.6.6.1 Factores que disminuyen la absorción de hierro.....	19
3.6.6.2 Factores que favorecen la absorción de hierro.....	20

3.6.7	Requerimientos.....	21
3.7	Fumarato Ferroso.....	22
4.	Metodología.....	23
4.1	Diagrama general de la investigación.....	23
4.2	Selección de la materia prima.....	24
4.3	Acondicionamiento de la materia prima.....	24
4.4	Análisis bromatológico.....	24
4.4.1	Humedad.....	24
4.4.2	Proteína cruda.....	24
4.4.3	Grasa cruda.....	25
4.4.4	Cenizas.....	25
4.4.5	Fibra cruda.....	25
4.4.6	Hidratos de carbono.....	26
4.5	Determinación de hierro total.....	26
4.6	Determinación de calcio total.....	26
4.7	Métodos biológicos.....	27
4.7.1	Determinación de la Relación de Eficiencia Proteínica (REP).....	27
4.7.2	Determinación de la Relación Neta de la Proteína (RNP).....	27
4.7.3	Digestibilidad aparente.....	28
4.8.	Balance de hierro.....	28
5.	Análisis estadístico.....	28
6.	Resultados y discusión.....	29
6.1	Análisis bromatológico de la semilla de chía (<i>Salvia hispanica</i>).....	29
6.2	Formulación de las dietas de caseína y chía.....	32
6.3	Contenido de proteína en las dietas.....	32

6.4 Curva de crecimiento de los ensayos biológicos de la REP y RNP.....	33
6.5 Calidad proteínica de la semilla de chíá y caseína.....	34
6.5.1 Relación de la Eficiencia de la Proteína.....	34
6.5.2 Relación Neta de la Proteína.....	35
6.6 Digestibilidad aparente.....	36
6.7 Balance de hierro.....	38
7. Conclusiones.....	40
8. Bibliografía.....	41
9. Abreviaturas.....	50
10. Anexo I (Metodologías).....	56
11. Anexo II (Análisis estadístico).....	71
12. Anexo III (Registro de datos).....	74

1. INTRODUCCIÓN

El amaranto, el frijol, la chía y el maíz eran los principales componentes de la dieta de los pueblos americanos prehispánicos. De éstos, sólo el frijol y el maíz continúan teniendo una gran importancia en casi todos los países de Latinoamérica; el amaranto es poco conocido, y la chía (*Salvia hispanica*) es un claro ejemplo de un alimento casi perdido en la inmensidad de la historia mesoamericana. Si bien la importancia de esta semilla en la alimentación actual de los mexicanos está muy lejos de ser la que tenía en la antigüedad, en el sureste de México (principalmente Jalisco) y de Centroamérica aún se utiliza en la preparación de alimentos y bebidas (Ayerza, 2006).

La semilla de chía es una buena fuente de proteínas puesto que presenta un perfil notable al tener todos los aminoácidos indispensables. También contiene grandes cantidades de aceite que varía entre un 28 y 32%, y dicho aceite ofrece el porcentaje más elevado de ácido linolénico con respecto a otras semillas. (Omega 3) (Atlas, 2011).

Por otro lado, la fibra soluble que contiene la semilla de chía permite que el organismo prolongue su estado de hidratación, retenga humedad y se regulen más eficientemente los fluidos corporales y la absorción de nutrimentos (Ayerza, 2006).

En años recientes el interés por esta semilla ha resurgido y algunos estudios han reportado que podría ser una buena fuente de fibra dietética, proteína, ácidos grasos omega 3 y antioxidantes. A pesar del interés por la semilla aún no se han encontrado trabajos publicados sobre la calidad de la proteína. Por lo anterior, se decidió estudiar su composición química y la calidad proteínica, además determinar si la semilla de chía mejora la absorción de hierro, utilizando los métodos biológicos de Relación de la Eficiencia de la Proteína (REP), Relación Neta de la Proteína (RNP), Digestibilidad y Balance de Hierro. La información generada se incluirá en una base de datos sobre la calidad proteínica de distintas fuentes animales y vegetales, que sirva de consulta para los alumnos de la carrera de Química de Alimentos.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo General

- Evaluar composición y la calidad proteínica de la semilla de chía (*Salvia hispanica*) por métodos biológicos, así como la absorción de hierro, para incluir los resultados en una base de datos sobre la calidad proteínica de distintas fuentes animales y vegetales, bajo las condiciones experimentales con las que cuenta la Facultad de Química para su consulta por estudiantes de la carrera de Química de Alimentos.

2.2 Objetivos específicos

- Determinar la composición química, contenido de hierro y calcio de la semilla de chía (*Salvia hispanica*) por medio de un análisis bromatológico.
- Evaluar la calidad proteínica de la semilla de chía (*Salvia hispanica*) utilizando los métodos biológicos: Relación de Eficiencia de la Proteína (REP) y Relación Neta de la Proteína (RNP) y Digestibilidad aparente (Da).
- Determinar si la semilla de chía (*Salvia hispanica*) mejora la absorción de hierro mediante un balance de hierro a través de métodos biológicos.

3. ANTECEDENTES

3.1 Historia

Hay evidencia científica que muestra que la semilla de chía comenzó a usarse en la alimentación humana unos 3500 años a.C. Los mesoamericanos ya disponían de ella en el año 2600 a.C. y se convirtió en un cultivo básico en el centro de México entre 1500 y 900 a.C ya que era utilizada como moneda (Coates, 2012).

En la época precolombina, la semilla de chía era uno de los alimentos básicos de las civilizaciones de América Central (los aztecas y los mayas), después del maíz y frijol, y antes que el amaranto (Hernández, 2007).

Los gobernantes aztecas recibían semillas de chía como tributo anual de las naciones conquistadas y también se las ofrecían a los dioses durante las ceremonias religiosas. Usaban la semilla de chía en distintos preparados nutricionales y medicinales, así como también en la elaboración de ungüentos cosméticos. Era fuente de energía para travesías prolongadas y, combinada con maíz, alimento para los guerreros. Una comida típica (tzoalli) la preparaban con semillas de amaranto y chía tostadas, miel de maguey y harina de maíz. La harina de chía tostada se utilizaba en la preparación de una popular bebida refrescante y nutritiva, costumbre que, con variantes, hoy persiste en nuestro país y el resto de Centroamérica y se denomina “fresco o refresco de chía” (agua, limón y chía).

Los ceramistas y pintores utilizaban el aceite de chía para la preparación de barnices y pinturas, que se destacaban por su brillo y resistencia al envejecimiento. La harina de chía podía ser almacenada mucho tiempo, podía transportarse fácilmente en viajes largos y se utilizaba como moneda de pago para tributos y transacciones (Bendaña, 2012).

Sin embargo, con la conquista española se destruyó la mayor parte del sistema intensivo de producción y comercialización agrícola en uso. Muchos cultivos que habían mantenido una posición relevante en las dietas precolombinas americanas fueron eliminados por los españoles debido a su

estrecha relación con la religión y reemplazados por especies foráneas (trigo, cebada, arroz, entre otros.) demandadas por los conquistadores.

Cabe mencionar que la población de semillas de chía se componía de semillas oscuras y blancas. Existen diferencias entre las semillas de chía oscuras y blancas, en cuanto a contenido de proteína y composición de ácidos grasos. Las semillas oscuras tienen mayor contenido de proteína, mientras que en las blancas, el contenido de ácido α -linolénico es mayor. Aunque los aztecas no tenían como determinar químicamente estas características, podían notar que los rendimientos en el campo eran mayores con la semilla oscura, lo que explicaría, por qué la semilla oscura sobrevivió y continuó creciendo y la blanca se perdió como cultivo independiente (Ayerza, 1996). Sin embargo, recientemente Ayerza (2013) informó que al analizar la composición química de semillas de chía blancas y negras, no hubo diferencia significativa en el contenido de proteína, aceite y en el perfil de ácidos grasos entre las semillas oscuras y semillas blancas cultivadas en cinco ecosistemas diferentes.

3.2 Clasificación botánica

La palabra chía es una adaptación española de la palabra náhuatl *chian* o *chien* que en plural significa “semilla de la que se obtiene aceite”.

Chía también es el nombre común de otras numerosas plantas nativas de México y aunque la mayoría pertenece al género *Salvia* (*Laminaceae*), algunas son del género *Hypislaminaceae*) y la del género *Amaranthus* (*Amaranthaceae*) (Ayerza, 2006).

La chía (*Salvia hispanica*) es una planta anual, de verano, que pertenece a la familia de las *Laminaceae*; originaria de México. Mide de 1 a 1.5 metros de altura de tallos cuadrangulares, hojas ovaladas, las flores se producen en las espigas terminales. La mayoría de las variedades tienen flores de color azul, morado y blanco. En el fruto se encuentran las semillas que son ovaladas, lisas, brillantes de color oscuro grisáceo, con manchas irregulares color rojizo (Vega, 2010).

3.3 Condiciones de cultivo

La semilla de chía se cultiva en climas tropicales y subtropicales, y no es tolerante a las heladas.

Los lugares más apropiados para su siembra son los del clima cálido o templado con suelos arenosos, las tierras ricas en nitrógeno no son muy apropiadas para su cultivo, porque originan un desarrollo de tallos y hojas, y la producción de semillas y flores es escasa por lo que se pueden aprovechar suelos que no son aptos para otro tipo de cultivos. La siembra debe programarse de manera que la cosecha no se realice en el periodo de lluvias, y se cosechará cuando hayan desaparecido todas las flores; las semillas se separarán fácilmente, ya sea por fricción con la palma de la mano o bien si se corta la planta, debe dejarse secar y finalmente sacudir para desprender las semillas (Cooper, 2006).

En la Figura 1 se muestra la planta de la chía (*Salvia hispanica*), en este caso las flores son de color morado.



Figura 1. *Salvia hispanica* L., Jardín Etnobotánico, Oaxaca, México.
Foto: Pedro Tenorio Lezama, 2002

3.4 Distribución de la chía (*Salvia hispanica*)

En la actualidad la chía se cultiva en Argentina, Bolivia y México. En Argentina y México es un cultivo de verano-otoño, en Bolivia la chía es un cultivo de otoño-invierno, sembrada después de la cosecha de los otros cultivos.

Los botánicos estiman que en México hay 275 especies, de las cuales el 88% son endémicas. La mayor diversidad de la especie *Salvia* se encuentra en el oeste de México, entre los 500 y 700 metros sobre el nivel del mar, lo que hace presumir que su origen se encontraba allí (Ayerza, 2006).

Se distribuye en los estados de Sinaloa, Jalisco: Cuautitlán, Ahualulco de Mercado, Tolimán; y en Michoacán: Tzintzuntzán, Uruapan, Zacapu, Erongarícuaro, Huaniqueo, Morelia, Pátzcuaro y La Piedad.

En los países donde la chía no es nativa, como en la Gran Bretaña el cultivo es a pequeña escala: las semillas se siembran en un invernadero en marzo y abril. La germinación usualmente tarda un lapso de dos semanas. Dichos germinados se trasplantan cuando tienen la altura suficiente para ser colocadas en macetas individuales (Beltrán, 2003).

3.5 Composición química y características nutricionales de la semilla de chía (*Salvia hispanica*).

En la literatura se encuentran diversos resultados sobre las características de la semilla de chía, observándose un alto contenido de proteína que va desde un 16% a 23% y fibra desde 18% a 34%. Por lo anterior la semilla de chía ha resultado ser atractiva como fuente de proteína vegetal y fibra. A continuación se describe su composición química y características nutricionales.

3.5.1 Ácidos grasos de la semilla de chía

La cantidad de aceite que contiene la semilla de chía es de 3 a 10 veces mayor que la concentración que tienen la mayoría de los granos. El fraccionamiento del aceite de semilla de chía muestra la siguiente

composición, en porcentaje de los lípidos totales: 97.1% de lípidos neutros, 2.0% de glicolípidos y 0.9% de fosfolípidos. Los ácidos grasos predominantes en las fracciones de los glicolípidos y los fosfolípidos son palmítico y linoleico, mientras que en la fracción de los neutros es α -linolénico.

La semilla de chía se caracteriza por su gran riqueza en ácidos grasos indispensables para el organismo humano ya que son útiles para elaborar lípidos necesarios para muchas funciones metabólicas, como aquellos que participan en las señales nerviosas y neuronales y en actividades glandulares. Además representa la fuente vegetal de mayor concentración de ácidos grasos omega-3. Sus semillas poseen hasta un 33% de aceite, del cual el ácido linolénico (omega-3) representa el 62% y el linoleico (omega-6) el 20%. En la Tabla 1 se presenta una recopilación de varios autores que describen la composición de los ácidos grasos de la semilla de chía, se observa que el ácido linolénico es el que predomina, seguido del contenido de ácido linoleico, palmítico, oleico y finalmente esteárico (Beltrán, 2013; Bendaña, 2012).

Por lo tanto, el porcentaje combinado de ácidos grasos indispensables (α -linolénico y linoleico) de la semilla de chía es de (82.3%). Le siguen el cártamo (75%), lino (72%) y el girasol (67%). La diferencia entre la chía, el cártamo y el girasol es aún más significativa si se consideran que estos dos últimos contienen cantidades mínimas de ácido α -linolénico (Bushway, 1984).

Por otra parte se encontró, en la fracción lipídica de la semilla de chía de Jalisco y Sinaloa, cantidades significativas de escualeno y fitoesteroles, los cuales son componentes conocidos por tener efectos hipocolesterolémicos y anticancerígenos. Dicha caracterización de la fracción lipídica de las variedades mexicanas proporcionó información que sugiere su uso como fuente de dichos compuestos considerando la tendencia actual hacia un aumento del consumo de alimentos funcionales. También se abre la posibilidad de utilizar la semilla como materia prima para fines industriales (Álvarez, 2008).

Tabla 1. Composición de ácidos grasos del aceite de chía

Aceite (%)	Ayerza (1996)	Heuer (2002)	Ayerza (2006)	Peirettí (2008)	Chicco (2009)
Palmítico 16:0	6.4-7.9	7.6-8.7	6.9	7.1	6.6
Esteárico 18:0	2.4-3.2	2.6-3.0	2.8	3.3	2.8
Oleico 18:1	6.0-6.6	6.1-6.3	6.6	6	6.8
Linoleico 18:2	17.0-20.1	17.4-18.7	19.0	18.8	18.6
Linolénico 18:3	63.2-67.8	63.5-65.1	63.8	64.1	64.6

3.5.2 Contenido de proteínas y composición de aminoácidos

La semilla de chía es una fuente completa de proteína ya que contiene todos los aminoácidos indispensables (aquellos que no pueden ser sintetizados por el organismo), en la Tabla 2 se puede observar el contenido de aminoácidos indispensables y dispensables en la semilla de chía (Bushway, 1981; Atlas, 2011).

Al comparar el contenido de lisina y triptófano en la semilla de chía (3.6 g/16 g N y 1.29 g/16 g N) con otros cereales de mayor comercialización como la avena (2.76 g/16 y 1.18 g/16 g N), maíz (2.50 g/16 g N y 0.60 g/16 g N) y trigo (2.60 g/16 N y 1.10 g/16 g N) se observa que es mayor respectivamente. Por lo anterior, la semilla de chía puede ser una fuente atractiva de lisina y triptófano, ya que estos aminoácidos suelen ser más abundantes en las proteínas de origen animal y en leguminosas. Además de que puede ser una buena fuente de aminoácidos azufrados (metionina y cisteína) (Wioletta, 2009).

La proteína que contiene la semilla de chía se digiere y se absorbe fácilmente, lo cual resulta en un transporte rápido a los tejidos y su utilización por las células del organismo. Esta rápida asimilación de la proteína hace que la chía sea importante en la dieta de los niños, aunque también en las etapas del embarazo y lactancia (Beltrán, 2003).

Tabla 2. Contenido de aminoácidos del hidrolizado de proteínas de semillas de chía. (*Salvia hispanica* L.).

			Aminoácido	Chía (ES g/16gN)	Chía (EP g/16gN)
Niños	Adultos	Indispensables	Leucina	5.89	5.99
			Isoleucina	3.21	3.35
			Lisina	4.44	3.6
			Treonina	3.43	3.23
			Triptófano	----	1.29
			Valina	5.1	5.32
			Fenilalanina	4.73	4.77
			Metionina	0.36	0.36
			Histidina	2.57	2.45
			Arginina	8.9	8.63
Dispensables			Alanina	4.31	4.41
			Glicina	4.22	4.03
			Serina	4.86	4.43
			Prolina	4.4	3.92
			Tirosina	2.75	2.75
			Ácido aspártico	7.64	7.36
			Ácido glutámico	12.4	13.65
			Cisteína	1.47	1.04
			Total	80.64	80.81

Fuente: Bushway, 1981.

ES- Extracción por solvente; EP-Extracción por prensa.

3.5.3 Fibra

La Fibra Dietética Total (FDT) es un término general para una mezcla heterogénea de componentes de los alimentos vegetales (estructuras de soporte de las paredes celulares de las plantas y las sustancias íntimamente relacionadas con ellos) que no son digeridos por las enzimas del tracto gastrointestinal. Los componentes típicos de la fibra dietética incluyen

celulosa, hemicelulosa, lignina, pectinas y una variedad de mucílagos. Todos estos excepto la lignina son polisacáridos. La heterogeneidad de la fibra dietética es la razón principal de la diversidad de sus efectos fisiológicos.

El término de Fibra Dietética Total (FDT) incluye tanto la fibra dietética insoluble y soluble en agua. La fibra insoluble consiste principalmente en componentes de la pared celular, tales como celulosa, lignina y hemicelulosa. Está presente principalmente en el trigo, la mayoría de los productos de cereales y verduras. Dentro de sus ventajas se encuentra que acorta el tiempo de tránsito intestinal, aumentando la masa fecal.

La fibra soluble se compone de polisacáridos no celulósicos como la pectina, gomas y mucílagos, se encuentra principalmente en frutas, avena, cebada y legumbres. Dentro de los beneficios de la fibra soluble se encuentra su capacidad de hincharse al absorber agua, esto produce la formación de un gel y un consiguiente aumento del volumen en las heces, lo que provoca movimientos peristálticos más frecuentes del intestino y por lo tanto ayuda a reducir la probabilidad de trastornos del tracto intestinal y estreñimiento, permite que la glucosa sea absorbida lentamente por el organismo, con lo cual se mejora la tolerancia a ésta, por tal motivo es benéfica para los diabéticos, y mejora la función del sistema inmune, además de que disminuye los niveles de colesterol en sangre (Dreher,2001; Reyes, 2008; Vázquez, 2008).

La semilla de chía tiene una considerable proporción de hidratos de carbono no digeribles y de estructura compleja que son considerados como fibra.

El contenido de fibra en la harina residual de chía representa alrededor de un 40%, de la cual un 5% corresponde a fibra soluble, denominada mucílago. Las semillas de chía al ser sumergidas en agua, quedan envueltas por un material de aspecto gelatinoso conocido como mucílago, el cual es de interés no sólo desde el punto de vista nutricional sino de importancia como agente espesante en la industria alimentaria (Ixtaina, 2010).

3.5.4 Vitaminas y nutrimentos inorgánicos

Las vitaminas comprenden un grupo diverso de compuestos orgánicos con funciones biológicas importantes, y forman parte de los componentes minoritarios de los alimentos (Fennema, 1995).

Los nutrimentos inorgánicos cumplen funciones tanto catalíticas como estructurales. Dentro de las primeras se debe mencionar la regulación metabólica, en la que, por ejemplo, el hierro al formar parte de los citocromos interviene en la cadena respiratoria. La cantidad que el organismo humano requiere de estos nutrimentos es muy pequeña (miligramos o microgramos) y generalmente la dieta suele ser suficiente para cubrir dichas necesidades (Casanueva, 2010).

En la Tabla 3 se presentan el contenido de vitaminas y nutrimentos inorgánicos en la semilla de chía.

La semilla de chía es una buena fuente de vitamina B₃. Descubrimientos muestran que los niveles bajos de vitamina B en la sangre están ligados a un riesgo creciente de sufrir una enfermedad cardiocoronaria. Esto se debe a que la homocisteína, un aminoácido que no forma proteínas y no es un constituyente dietario normal se eleva cuando los niveles de ácido fólico y vitamina B son inadecuados.

La comparación del contenido de vitaminas de la chía con otros cultivos tradicionales muestra que tiene más niacina que el maíz, la soya, el arroz y el cártamo. El contenido de tiamina y riboflavina es similar al del arroz y maíz.

La semilla de chía es una fuente excelente de calcio, fósforo, magnesio, potasio, hierro, zinc y cobre. Los niveles de hierro son elevados y representan una cantidad inusual para una semilla que, comparada con otros productos tradicionales conocidos como fuentes ricas en hierro presenta, por cada 100 gramos de porción comestible, 6, 1.8 y 2.4 veces más cantidad de hierro que la espinaca, las lentejas y el hígado vacuno respectivamente (Ayerza, 2006).

Tabla 3. Contenido de vitaminas y nutrimentos inorgánicos en semillas de chía y harina de chía desengrasada (mg/100 g).

	Semilla entera de		Harina
	Nutrimento	chía	desengrasada
Nutrimentos inorgánicos	Calcio	714	1.18
	Potasio	700	1.10
	Magnesio	390	500
	Fósforo	1.067	1.17
	Aluminio	2.0	4.3
	Boro	----	1.4
	Cobre	0.2	2.6
	Hierro	16.4	20.4
	Manganeso	2.3	6.8
	Molibdeno	0.2	---
	Sodio	----	2.9
	Zinc	3.7	8.5
Vitaminas	Niacina	6.13	11.30
	Tiamina	0.18	0.79
	Rivoflavina	0.04	0.46
	Vitamina A	44IU	----

Fuente: Ayerza, 2006.

3.5.5 Antioxidantes

Un radical libre es una especie química definida que tiene en su estructura uno o más electrones desapareados, lo que lo convierte en un compuesto altamente inestable y reactivo. Los radicales libres pueden modificar la estructura de otras moléculas (proteínas, ácidos nucleicos, lípidos e hidratos de carbono) y alterar su capacidad funcional (Fitó, 2003; Casanueva, 2010).

Un antioxidante se define como “cualquier sustancia que cuando está presente a bajas concentraciones retrasa o previene la oxidación” (Ruiz, 2009).

Los antioxidantes más importantes de la chía son los ácidos clorogénico y cafeínico, tanto como los flavonoides mirecitina, quercetina y kaempferol, estos compuestos son antioxidantes primarios y sinérgicos, es por esto que los aztecas pudieron comercializar semillas y harina por largos períodos de tiempo sin que hubiera deterioro del producto por rancidez (Reyes, 2008).

La semilla de chía cuenta con una capacidad antioxidante comparable y en algunos casos superiores a ciertos alimentos catalogados como ricos en antioxidantes como la frambuesa, cereza, manzana roja, granada y kiwi, lo cual convierte a la semilla de chía en un alimento viable para complementar antioxidantes (González, 2010).

3.5.6 Aplicaciones y potenciales usos de la semilla de chía

Industria de alimentos

Los aceites esenciales que contiene la semilla de chía pueden usarse en la industria de saborizantes y fragancias. Debido a las ventajas nutricionales del aceite se está usando en la adición de panes, pastas, chocolate, mezclas de aceite de oliva (Crispin, 2006; Hernández, 2008; Peiretti, 2010).

Mezclando la semilla de chía con alimento para pollos se obtiene carne de pollo con aroma agradable para el consumidor, además se mejora el perfil de lípidos aumentando el contenido de ácidos grasos omega 3. Diversos estudios científicos han informado acerca de la ventaja nutricional de las semillas de chía en la nutrición de aves, conejos, vacas y en la dieta de vacas para producción lechera (Ayerza, 2001; Peiretti, 2010; Vega, 2010).

Por otro lado el mucílago de la testa de semilla de chía es un polisacárido útil como fibra soluble y dietética (Hernández, 2008).

Actualmente está en proceso de ser aceptada como un nuevo ingrediente para la elaboración de pan por la UK Food Standards del Reino Unido como una fuente de ácidos grasos omega-3 (Cooper, 2006).

Se ha visto que a partir de la chía se obtiene una película (un film) biodegradable que se adhiere o cubre a los alimentos y los protege, alargando su vida útil. Su propósito es inhibir o reducir la migración de humedad, oxígeno, dióxido de carbono, aromas y pigmentos. Este

recubrimiento es comestible, sin olor ni sabor y puede servir como antioxidante o antimicrobiano. Además como es biodegradable, no perjudica el medio ambiente (Nolasco, 2012).

Por su parte Borneo (2010) realizó un estudio en la elaboración de pan; encontró que la chía al tener contacto con el agua forma un gel que puede sustituir el 25% del huevo sin modificar las propiedades organolépticas del pan, y mejorando el contenido nutrimental en éstos.

Las disoluciones acuosas de mucílago de chía permiten estabilizar emulsiones como mayonesas, helados y saborizantes líquidos. Se observó también que al mezclar de 0.1 a 0.5 g de mucílago pulverizado con 50-200 mL de leche, el mucílago propicia la floculación de la leche y esta acción, puede aprovecharse en el proceso de elaboración de quesos, requesones (Duarte, 2011).

Medicinal

Desde tiempo atrás se usa para retirar cuerpos extraños de los ojos introduciendo una semilla al hincharse con la humedad, engloba el cuerpo extraño extrayéndolo (Waizel, 2006).

Consumo de cápsulas de aceite de chía.

Industria cosmética

Como estabilizante de cremas y shampoos.

Con el aceite de la semilla de chía se elaboran lacas artesanales (Hernández, 2008; Duarte, 2011).

3.6 Hierro

El hierro es un nutrimento indispensable ya que cumple diversas funciones biológicas: forma parte de la hemoglobina, mioglobina, de los sistemas citocromáticos, peroxidasas, catalasas y diversas enzimas.

3.6.1 Distribución de hierro en el cuerpo

Los cuerpos de hombres y mujeres adultos contienen 55 mg y 45 mg de hierro por kilogramo de peso corporal, respectivamente. El hierro se encuentra como hierro funcional (este corresponde al hierro que se encuentra realizando una función metabólica), hierro de reserva (se encuentra en el hígado, bazo y mucosa intestinal y está en dos formas principales, la ferritina y la hemosiderina) y el hierro de transporte (se encuentra unido a la transferrina en forma férrica (Kathleen, 2001; González, 2007; Gunnar, 2007)).

3.6.2 Formas y fuentes de hierro

El hierro se encuentra en alimentos en dos formas:

- 1) Hierro hemo: Se caracteriza por su alta solubilidad, que permite la fácil absorción por la mucosa intestinal y se encuentra principalmente en tejidos animales. Se encuentra en carnes rojas, hígado y vísceras en forma de hemoglobina, y mioglobina.

- 2) El hierro no –hemo: Requiere para su absorción la unión a una proteína de membrana, la molécula transportadora de metales divalentes (DMT-1) y se encuentra en alimentos de origen vegetal así como también en productos lácteos y huevo (Palomo, 2011).

En la Tabla 4 se presenta el contenido de hierro en diversos alimentos de origen animal y vegetal.

Tabla 4. Contenido de hierro en varios alimentos de origen animal y vegetal.

Alimento	mg Fe/100 g alimento (Base seca)
Yema de huevo	7.2
Pierna de cerdo	1.7
Carne de ternera	2.1
Pollo asado	1.8
Avena en grano	4.0
Germen de trigo	7.5
Pan de centeno integral	3.0
Uvas pasas	2.7
Almendra	4.7
Avellana	3.8
Semilla de girasol	7.0
Espinaca	4.1
Perejil	8.0
Garbanzo	6.5
Lenteja	7.0

Fuente: Pérez, 2007

3.6.3 Funciones del hierro

El hierro participa en diversas funciones, entre las cuales se encuentran:

- En la eritropoyesis, en donde interviene en procesos de división celular y síntesis de hemoglobina y mioglobina.
- En el ciclo de Krebs forma parte de algunas enzimas y en la respiración celular como transportador de electrones en los citocromos.
- La producción de ATP dentro de la mitocondria utiliza muchas enzimas que contienen hierro.
- El hierro es necesario para la función cerebral normal de todas las edades, ya que participa en síntesis de algunos neurotransmisores y de la mielina. Así, se han observado diferencias en el rendimiento

escolar, la atención, el aprendizaje y la capacidad de memorización entre niños con anemia y con niveles normales de hierro (Soriano, 2006; Trejo, 2006).

3.6.4 Absorción

La cantidad de hierro absorbido a partir de la dieta varía muchísimo de una persona a otra, e incluso en la misma de un momento a otro. Se ve afectada por la concentración de hierro en la sangre y por la presencia de otros factores dietéticos. Aunque el hierro puede absorberse a lo largo de todo el intestino, su absorción es más eficiente en el duodeno y la parte alta del yeyuno, para su absorción es necesario que tenga forma soluble y para ello debe encontrarse en estado reducido (Fe^{2+}), pues la forma férrica (Fe^{3+}) al ser insoluble, es menos absorbible por la mucosa intestinal, la mayor parte del hierro se reutiliza y muy poco se excreta (Bender, 1995; Trejo, 2006).

El enterocito reconoce a dos tipos de hierro según su forma química. La absorción del hierro hemo y no hemo a través de los enterocitos sigue diferentes caminos.

El hierro no hemo es captado por dos mecanismos: difusión a través de las células de la mucosa o utilizando un mecanismo activo mediante transportadores dependientes de energía.

Un agente reductor (ascorbato), reduce el hierro no hemo férrico a hierro ferroso en el lumen o el hierro forma quelatos solubles con compuestos luminales. El ión es entonces transferido a una proteína lo que permite su unión específica a un transportador de hierro al interior de la célula. Una vez en el interior el hierro es transferido a proteínas semejantes a la transferrina, que lo ceden a la ferritina por lo que queda así en el enterocito.

La absorción del hierro hemo tiene lugar como una estructura porfirínica intacta, a través de receptores específicos presentes en la mucosa del borde en el cepillo y se encuentra poco influenciado por los factores luminales, ya que en esta forma química no puede ser quelado por los diferentes ligandos, lo que justifica su mayor absorción respecto al hierro no hemo.

Una vez captado el hierro hemo, la estructura porfirínica es degradada mediante una homoxigenasa, y se genera bilirrubina que pasa a la

circulación portal, por lo que queda el hierro en forma inorgánica formando parte del total del hierro enterocitario común (Rodak, 2004; Soriano, 2006).

3.6.5 Deficiencia de hierro y enfermedades

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha reportado que existen aproximadamente 2,000 millones de personas con anemia y se estima que la deficiencia de hierro es la causa en el 50% de los casos (Palomo, 2011).

La anemia por deficiencia de hierro es uno de los problemas de salud pública con mayor magnitud en todo el mundo. A pesar de conocer su etiología y tener a disposición el conocimiento de cómo enfrentarla y de saber que las inversiones son de bajo costo, aún no se ha podido superar este problema (Wilma, 1998).

La importancia de anemia ferropénica radica en las consecuencias que tiene sobre la salud, por ejemplo: la anemia en niños e infantes está asociada con retardo en el crecimiento y en el desarrollo cognoscitivo, así como con una resistencia disminuida a las infecciones. En los adultos, la anemia produce fatiga y disminuye la capacidad de trabajo físico. En las embarazadas se asocia con el bajo peso al nacer y un incremento en la mortalidad perinatal.

La información más reciente en nuestro país sobre la prevalencia de anemia se ha obtenido a través de la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) de acuerdo con los datos encontrados en 2012, la prevalencia de anemia sigue siendo un problema serio en México, especialmente en los niños menores de cinco años y muy en particular en los de 12 a 24 meses de edad, en los cuales, a pesar de que ha disminuido 16.6% en los últimos 13 años, aún se detectan prevalencias que indican un riesgo elevado y la necesidad de reforzar acciones de manera urgente (Franco, 2012).

3.6.6 Factores que influyen sobre la absorción del hierro

La absorción de hierro está determinada por factores intrínsecos o fisiológicos, como el balance del micronutriente, edad, estado fisiológico, sexo, secreciones ácidas, la hipoxia o el tránsito intestinal y las infecciones.

Además hay factores dietarios que pueden aumentar o disminuir la biodisponibilidad del hierro (Gunnar, 2007).

La biodisponibilidad se define como la proporción de nutrimento en el alimento ingerido que resulta accesible para su utilización en procesos metabólicos. En el caso de los nutrimentos minerales. La biodisponibilidad puede variar por diversos factores: la concentración y tipo de nutrimento, la interacción con los otros nutrimentos presentes en la dieta y el estado nutricional de la persona (Fennema, 1995).

3.6.6.1 Factores que disminuyen la absorción de hierro

Ácido fólico

El ácido fólico (fitato) contiene seis grupos de fosfato con una alta capacidad de unir los cationes como el hierro, causando interacciones entre ellos. También reacciona con las proteínas para formar complejos de variada composición (Delgado, 1999; Urdampilleta, 2010).

Calcio, Fósforo y Zinc

El efecto negativo de los nutrimentos inorgánicos, como el calcio, el fósforo o el zinc, se debe a que compiten por los transportadores de membrana de los enterocitos, modifican el estado de oxidación o interfieren en el metabolismo del Fe. Por ejemplo: En el caso del calcio tiene especial importancia, ya que además de intervenir en la biodisponibilidad de hierro no hemo, interviene también en la biodisponibilidad de hierro hemo (Urdampilleta, 2010).

Cuando existe deficiencia de zinc puede causar una disminución dramática en la actividad de la ferroxidasa, la cual se encarga de movilizar el hierro de los depósitos de almacenamiento y de incorporarlo a la hemoglobina provocando una deficiencia de hierro. La relación de Zn y Fe, tiene que ser muy elevada para que se den interacciones altas, por ejemplo, existe una disminución de biodisponibilidad de Fe en un 50%, cuando la proporción de Zn/Fe en una solución acuosa es superior a 5:1 (Fischer, 2005; Pizarro, 2005).

Fibra

La fibra dietética se ha asociado con efectos negativos en la absorción de minerales, no obstante existe controversia entre las investigaciones realizadas *in vitro* e *in vivo*, más que el efecto de la fibra, la disminución de la absorción de minerales se debe a los alimentos ricos en fibra que contiene fitatos unidos a la fibra insoluble.

Polifenoles

Los polifenoles también ejercen un efecto inhibitor sobre el hierro. Al actuar como prooxidante en la quelación del hierro (Urdampilleta, 2010).

3.6.6.2 Factores que favorecen la absorción de hierro

Ácido ascórbico (vitamina C)

El efecto de la vitamina C se le atribuye a la capacidad que tiene para reducir el hierro no hemo y mantener la solubilidad a un pH alto. Este efecto promotor se observa más en alimentos con un alto poder inhibitor de la absorción del hierro como el ácido fítico.

Aminoácidos

Los aminoácidos ricos en histidina y enlaces sulfhidrilos aumentan la absorción de hierro no hemo. Por lo tanto, las carnes con alto contenido en actina y miosina, son las que aumentan la biodisponibilidad de hierro no hemo.

Vitamina A

Se ha propuesto que esta vitamina ayuda en la movilización de las reservas de hierro, así como en la reutilización del mismo para la eritropoyesis. Por otro lado, la vitamina A como los betacarotenos ayuda a la solubilización del hierro no hemo, contrarrestando así el efecto de algunos inhibidores como los fitatos (Urdampilleta, 2010).

Fructooligosacáridos (FOS)

Los fructooligosacáridos (FOS) estimulan la absorción de varios micronutrientes como el calcio, magnesio, zinc y hierro. Existen estudios en animales, que muestran que la adición de FOS incrementa la absorción de hierro hasta 10%, de la misma manera que la adición de fructooligosacáridos de cadena corta (FOScc) mejoraban la recuperación de ratas anémicas y que podían prevenir la anemia mejorando la absorción tanto del hierro hemo como del no hemo (Delzenne 1995). Al parecer este efecto se debía al efecto de los ácidos orgánicos (lactato) y ácidos grasos de cadena corta producidos por las bacterias del lumen a partir de la fermentación de los fructoolisacáridos de cadena corta (FOScc) (Urdampilleta, 2010).

3.6.7 Requerimientos

En la Tabla 5 se muestran los valores de la Ingesta Diaria Sugerida (IDS) de hierro para la población mexicana.

Tabla 5. Valores de IDS de hierro para la población mexicana.

EDAD Y SEXO	Hierro (mg)
NIÑOS	
0 a 6 meses	s.i.*
7 a 12 meses	16
1 a 3 años	13
4 a 8 años	15
HOMBRES	
9 a 13 años	20
14 a 18 años	22
19 a 30 años	15
31 a 50 años	15
51 a 70 años	15
>70 años	15

MUJERES	
9 a 13 años	16
14 a 18 años	22
19 a 30 años	21
31 a 50 años	21
51 a 70 años	12
>70 años	12
Embarazadas	28
Lactantes	17-25

*s.i.: sin información suficiente para establecer una IDS

Fuente: Bourges, 2005.

3.7 Fumarato Ferroso

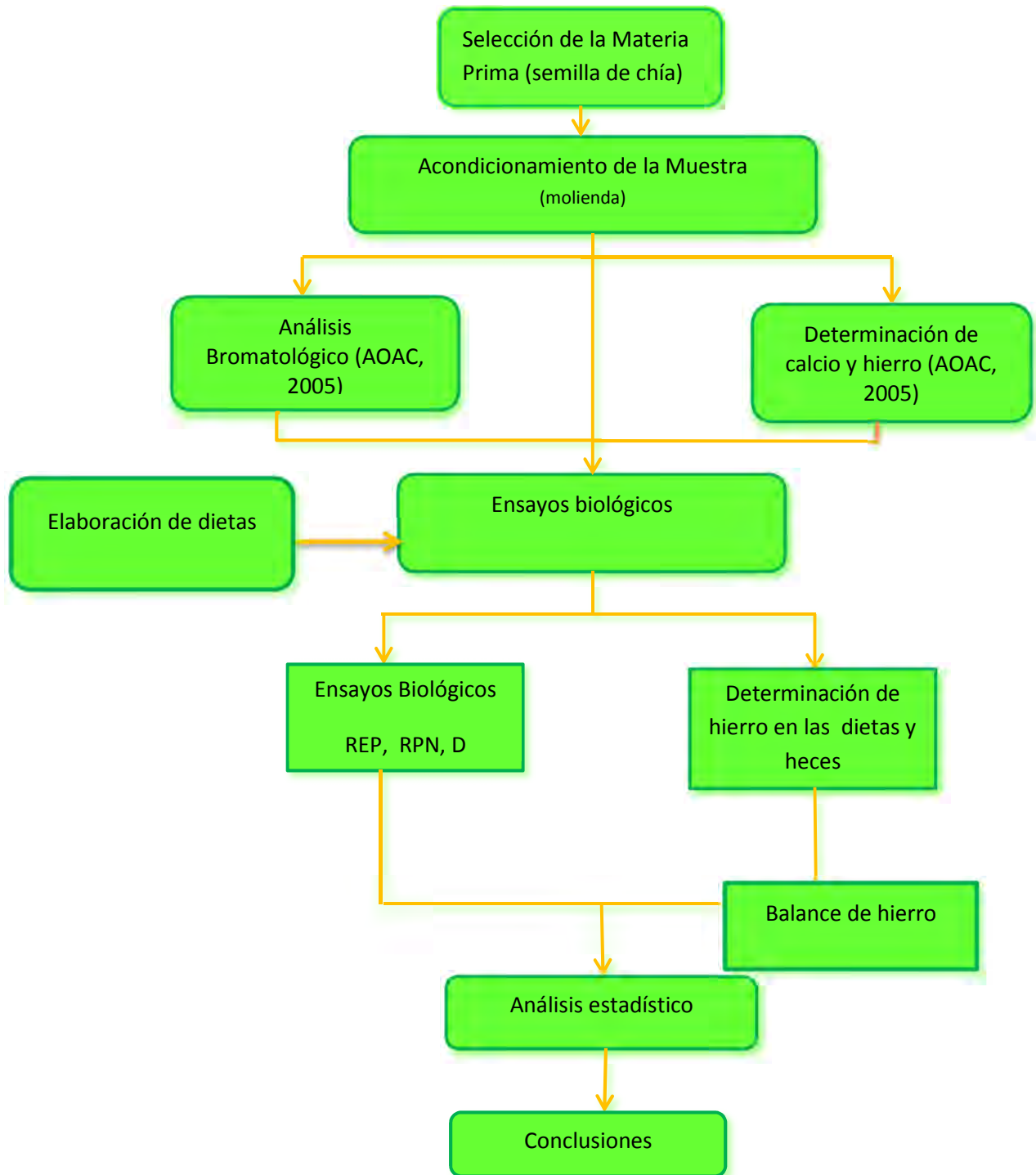
El fumarato ferroso junto con el succinato ferroso se clasifica entre los compuestos de hierro poco solubles en agua y clasificados como buenas fuentes (definidas como aquellas que permiten la absorción del 70% referido a sulfato ferroso). Estos compuestos se disuelven en la concentración ácida normal del estómago. Han demostrado ser efectivos en la adición a cereales ya que no se han detectado problemas de enranciamiento de estos últimos.

Por otra parte, este tipo de compuestos no pueden ser utilizados en medios líquidos neutros, ya que precipitan debido a su baja solubilidad.

Dentro de las ventajas que ofrece el fumarato ferroso se encuentra que tiene una baja interacción con la matriz alimentaria y por lo tanto causa menos cambios sensoriales (Robinson, 1999; Boccio, 2004).

4. METODOLOGÍA

4.1 Diagrama general de la investigación



4.2 Selección de la materia prima

Se adquirió 3 kg de semilla de chía, marca Agrobeck ®, originaria del estado de Jalisco.

4.3 Acondicionamiento de la materia prima

Se pesó 2.5 kg de semillas de Chía Marca Agrobeck ®, se molió la muestra en licuadora y posteriormente se tamizó por malla No.20, para obtener un tamaño de partícula homogéneo menor a 0.84 mm.

4.4 ANÁLISIS BROMATOLÓGICO

Se realizó el análisis bromatológico de acuerdo a los métodos propuestos por la A.O.A.C (2005) que consistieron en la determinación de humedad por secado en estufa a 100 °C (método 950.01), cenizas por calcinación (método 923.03), extracción de grasa el método de Goldfisch (método 920.85), fibra cruda por digestión ácida y alcalina (método 920.86) y proteína cruda por método de Kjeldahl (método 960.52A). Los hidratos de carbono se determinaron por diferencia.

Se determinó calcio (Ca) por el método de titulación con permanganato de potasio (método 944.03) y contenido de hierro (Fe) por método colorimétrico con o-fenantrolina (método 944.02).

4.4.1 Determinación de humedad

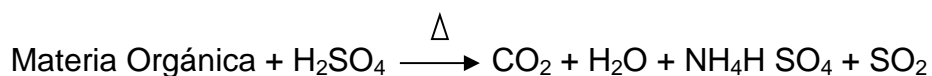
Fundamento: La determinación de secado en estufa se basa en la pérdida de peso de la muestra por evaporación del agua. Para esto se requiere que la muestra sea térmicamente estable y que no contenga una cantidad significativa de compuestos volátiles (Nollet, 1996).

4.4.2 Determinación de proteína cruda

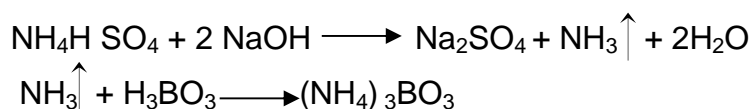
Fundamento: El procedimiento de referencia Kjeldahl determina la materia nitrogenada total, que incluye tanto las no proteínas como las proteínas verdaderas (Pearson, 1993).

El proceso consta de tres pasos:

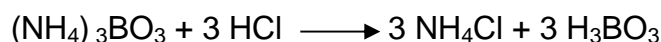
- a) Digestión. Consiste en la oxidación de la materia orgánica por acción del ácido sulfúrico y la liberación del nitrógeno como sulfato ácido de amonio.



- b) Destilación: Consiste en la liberación del nitrógeno como amoniaco por la acción de un álcali fuerte y destilación del amoniaco por arrastre de vapor y retenido en ácido bórico.



- c) Titulación: Se titula el amoniaco liberado con ácido (HCl).



4.4.3. Determinación de grasa cruda

Fundamento: Es una extracción continua por disolvente donde a la muestra se le hace pasar vapor de disolvente y la grasa se cuantifica por pérdida de peso en la muestra o por grasa removida (Nielsen, 1998).

4.4.4. Determinación de cenizas

Fundamento: Toda la materia orgánica se oxida en ausencia de flama a una temperatura que fluctúa entre los 550 -600°C; el material inorgánico que no se volatiliza a esta temperatura se conoce como ceniza (Nollet, 1996).

4.4.5. Determinación de fibra cruda

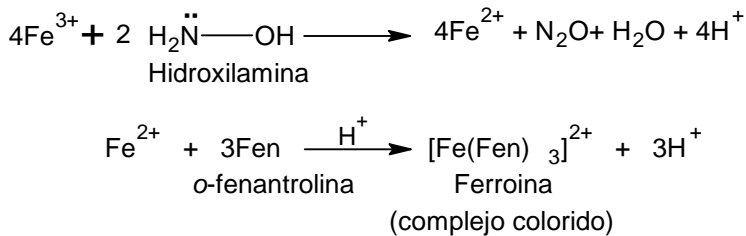
Fundamento: La fibra cruda es la fracción orgánica de la muestra que resiste un tratamiento alternado de ácido sulfúrico e hidróxido de sodio hirviendo al 1.25%. El compuesto más abundante de este residuo es el carbohidrato celulosa y en menores cantidades hemicelulosa, ligninas y pentosanas.

4.4.6. Determinación de hidratos de carbono

Fundamento: Son los hidratos de carbono no fibrosos como los almidones y los azúcares. Si se suman los porcentajes de humedad, cenizas, proteínas, grasa cruda y fibra cruda y el total se resta de 100, se puede suponer que esta diferencia corresponde a los hidratos de carbono (Cunniff, 1995).

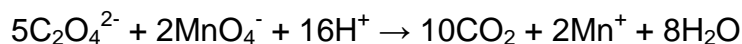
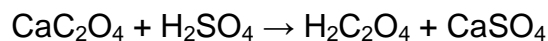
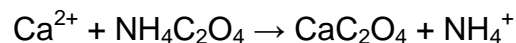
4.5 Determinación de hierro total:

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 (Sierra, 2007).



4.6 Determinación de calcio total:

Fundamento: El ión calcio es precipitado cuantitativamente como oxalato de calcio, mediante la acción del oxalato de amonio. El precipitado de oxalato cálcico es soluble en ácido sulfúrico, pasando a la forma de ácido oxálico y el ácido oxálico se titula con una disolución valorada de permanganato de potasio (Jaimes, 1999):



4.7 MÉTODOS BIOLÓGICOS

4.7.1 Determinación de la Relación de Eficiencia Proteínica (REP)

La Relación de Eficiencia Proteínica (REP) se realizó de acuerdo al método propuesto por la A.O.A.C. 960.48 (2005).

Fundamento: Se basa en el grado de crecimiento de un animal bajo condiciones bien definidas. Proporciona información para evaluar la calidad nutrimental de la proteína, ya que si ésta es deficiente en uno o más aminoácidos indispensables, o estos no están biodisponibles para ser absorbidos, el crecimiento del animal se verá reducido al compararse con una proteína de referencia utilizada al mismo tiempo que la que está en prueba. Para que este método tenga reproducibilidad es necesario que la dieta de prueba contenga la misma concentración de proteína que la dieta de referencia, y su aporte se debe ajustar 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 de llevar los otros micronutrientes requeridos como vitaminas y minerales. Con esto la única variable será la calidad de la proteína del alimento en estudio (Adrian, 2000).

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

Fundamento: Determina 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 y elimina casi por completo el efecto no deseable que producen proteínas de baja calidad al realizar el método de REP.

Debido a que el Comité Interno para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio (CICUAL) de la Facultad de Química no permite utilizar un lote de ratas alimentadas con una dieta libre de nitrógeno (DLN), para evitar el estrés en

los animales, no se incluyó en el ensayo por lo que se consideró la ecuación propuesta por (Venegas 2011) para predecir el decremento de peso del animal si éste hubiera consumido una DLN utilizando el promedio de peso inicial de las ratas de cada lote.

4.7.3 Digestibilidad Aparente (Da)

Fundamento: La digestibilidad es un indicador inicial de la calidad nutrimental de un alimento, y es definida como “la disponibilidad de los aminoácidos constituyentes de la proteína para ser absorbidos por el organismo de prueba” para lo cual se determina la cantidad de nitrógeno ingerido en la dieta y el excretado en heces para conocer el nitrógeno absorbido (Adrián, 2000).

4.8 Balance de Hierro

Para realizar un balance del contenido de dicho nutrimento inorgánico, se debe determinar la cantidad de hierro ingerido en el alimento o en la dieta, así como, en las heces recolectadas durante el ensayo biológico.

5. Análisis estadístico

El análisis proximal se llevó a cabo por triplicado, posteriormente se obtuvo el promedio y desviación estándar correspondiente. Los resultados de los ensayos biológicos fueron analizados estadísticamente con un análisis de varianza de una sola vía con nivel de significativa igual a 0.05 (ANOVA) para observar diferencia significativa y en aquellos casos en los que se detectó diferencia significativa se realizó una prueba de Tukey con un nivel de significancia igual a 0.05.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 ANÁLISIS BROMATOLÓGICO DE LA SEMILLA DE CHÍA (*Salvia hispanica*).

En la tabla 6, se presentan los resultados del análisis bromatológico obtenido de la semilla de chía proveniente del estado de Jalisco, marca Agrobeck® junto con los de diversos estudios que se han realizado sobre la semilla de chía.

Tabla 6. Análisis bromatológico de semilla de chía (*Salvia hispanica* L.) (g/100 g)

	Base húmeda ^a	Base seca ^a	Flores (1938)	Bushway (1981)	Ayerza, (2006)	Monroy, (2008)	Bendaña (2012)
Humedad	6.59 ± 0.22	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Proteína^b	22.30± 0.37	23.87 ±0.39	22.43	24.66	20.70	19.90	21.30
Grasa	32.8 ± 0.23	35.15 ±0.25	40.90	31.14	30.40	35.20	32.89
Cenizas	3.69 ± 0.03	3.95 ± 0.03	7.15	4.82	4.61	4.64	4.62
Fibra	17.07± 0.20	18.27 ±0.24	-----	18.81	27.50	30.27	27.36
HC^c	17.51	18.74	29.52	19.54	40.29	9.99	-----
Calcio (mg)	138.2± 2.52	148.5 ± 2.7	-----	0.56	-----	-----	1096.28
Hierro (mg)	17.29± 0.96	18.50 ±1.03	-----	-----	-----	-----	56.44

^aLos resultados están expresados en g/ 100 g de muestra, ± desviación estándar, n= 3, obteniéndose coeficientes de variaciones menores al 5%.

^bEl factor de conversión para obtener el porcentaje de proteína fue 6.25.

^cHidratos de carbono calculados por diferencia.

De acuerdo a la tabla anterior se observa que el contenido de proteína en la semilla varía de 19 a 24%, grasa de 29 a 40%, cenizas de 4 a 7%, fibra de 18 a 37% e hidratos de carbono de 8 a 21%. Al comparar los resultados experimentales con estos valores se observa que el contenido de proteína, grasa, fibra e hidratos de carbono se encuentran dentro del rango encontrado en la literatura. Por otro lado se aprecia que existen marcadas diferencias en el contenido de micronutrientes como son el hierro y calcio, lo cual se puede atribuir a dos causas posibles como son el contenido de cenizas, que es menor a los valores

encontrados en la literatura y a que la composición de la semilla de chía está directamente relacionada al tipo de suelo, agua de riego de las plantas y a la variedad de ésta. Ya que dependiendo de estos factores se modifica el contenido de minerales (Ayerza, 2006).

Se obtuvo un porcentaje de humedad de 6.59% que si se compara con el establecido en la Norma Oficial Mexicana (NOM-247-SSAI-2008) el cual establece un valor de humedad máximo para semillas de 15%, se observa que es un valor óptimo para evitar el ataque por microorganismos. Un mayor contenido de humedad favorece el desarrollo de microorganismos aumentando el riesgo de deterioro de la semilla y por tanto afectando su almacenamiento y calidad.

Por su alto contenido de proteína (23.87%) la chía resulta una atractiva fuente de proteína vegetal, este porcentaje se compara favorablemente con otros cereales como el maíz (14%), trigo (14%), arroz (8.5%), avena (15.2%), cebada (9.2%) y amaranto (14.80%) y en leguminosas es mayor comparado con garbanzo (21%) y frijol bayo (22.7%) y similar en lentejas (23%). Inclusive si se compara con alimentos de origen animal como la pechuga de pollo (21.3%) y atún (23%), resulta ser semejante (Mataix, 2003; Ayerza, 2006).

Por otro lado, si se compara el valor de grasa obtenido experimentalmente (32.8%) con el de otras semillas de mayor importancia comercial tales como la soya (29%), el algodón (22%) y la avena (6.9%), se observa que el contenido de grasa es mayor en la semilla de chía. El aceite obtenido de la semilla de chía es considerado de alto valor nutrimental como lo señalan Ayerza (2006) y Bushway (1981), ya que tiene el mayor contenido de ácidos grasos omega-3 proveniente de una fuente vegetal, principalmente ácido linoleico y alfa linolénico. Este último de gran importancia en la nutrición humana, ya que se ha demostrado que reduce el riesgo de sufrir enfermedades cardiovasculares además de que actúa como sustrato para la transformación en DHA y EPA.

Desde el punto de vista industrial; actualmente en el mercado existen diversos productos adicionados con ácidos grasos omega-3, siendo el lino (*Linum*

usitatissimum L.) y la chía (*Salvia hispanica*) las únicas fuentes de origen vegetal, ya que las otras dos fuentes disponibles son de origen marino (las algas y harina de pescado). Al comparar las cuatro fuentes, se encontró que las de tierra tienen un contenido mayor de ácidos grasos omega-3, que las de origen marino (Ayerza, 2006). Una de las ventajas del contenido de antioxidantes en la semilla es la protección a estos ácidos grasos.

Asimismo, el contenido de fibra que se obtuvo (18.27%) es mayor al contenido en otros cereales más conocidos como el maíz (14.3%), trigo (12.6%), avena (10%) y arroz (2.8%).

El contenido de hierro que se encontró en la semilla de chía (18.50 mg/100 g), si se compara con otro cereal como la avena (10 mg/100 g) se observa que es mayor el contenido. Al compararlo con una leguminosa como el frijol bayo (5.7 mg/100 g), frijol negro (4.7 mg/100 g), habas (8.5 mg/100 g) y garbanzos (6.7 mg/100 g) presenta el mismo comportamiento, en comparación con otras semillas como la de girasol (6.7 mg/100 g), pepita (8.1 mg/100 g) y con verduras como el berro (2.5 mg/100 g) también es mayor (Astisarán, 1999; Mataix, 2003; Dendy, 2004).

El contenido de calcio encontrado en la semilla de chía fue de 148.5 mg/100 g, por lo que podría ser una buena fuente de calcio, ya que tiene ventajas sobre las leguminosas y los vegetales de hoja verde oscura, en los cuales se han encontrado compuestos como oxalatos y fitatos que inhiben la absorción de calcio. Ayerza (2006) indica que la semilla de chía no tiene este tipo de factores antinutricionales.

6.2 Formulación de las dietas de caseína y chía

En el Anexo 11 se muestra la composición de las dietas de caseína, caseína adicionada con fumarato ferroso, chía y chía adicionada con fumarato ferroso que

se evaluaron en los ensayos biológicos (Relación de la Eficiencia de la Proteína, Relación Neta de la Proteína y Digestibilidad aparente).

Se utilizó fumarato ferroso (Ferval®) en presentación de tabletas, el cual se calculó de tal manera que se adicionaron 400 mg de hierro por cada kg de dieta con la finalidad de cubrir el 25% de los requerimientos diarios para ratas sin provocar estrés oxidativo en la mucosa del colon ni colitis ulcerosa, lo cual sucedería con una ingesta mayor a 535 mg de hierro/ kg de dieta (Thompson y Zhang, 1991).

6.3 Contenido de proteína en las dietas.

En la Tabla 7 se muestran los resultados del contenido en porcentaje de proteína en las dietas obtenidos experimentalmente.

Tabla 7. Contenido de proteína en las dietas (g /100 g)

Dieta	Proteína
Caseína	10.0 ± 0.01
Caseína+FFe*	10.0 ± 0.01
Chía	9.56 ± 0.90
Chía+FFe*	9.98 ± 0.01

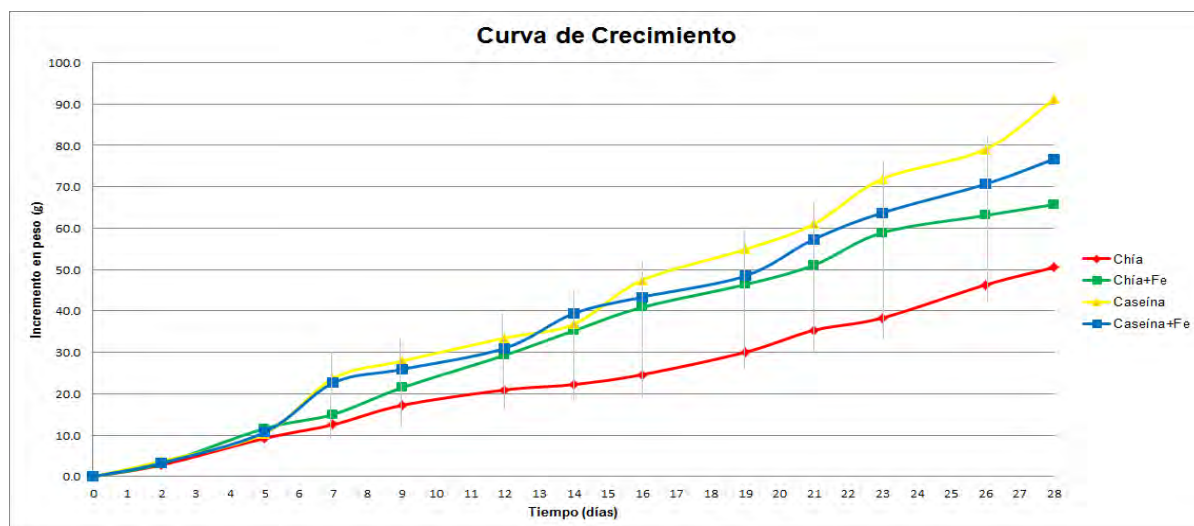
*FFe: Fumarato Ferroso

Las dietas realizadas son isoproteínicas e isoenergéticas con respecto a la dieta de referencia, para tener como única variable la procedencia de la proteína.

6.4 Curva de crecimiento de los ensayos biológicos de la REP y RNP.

En la Gráfica 1 se muestran las curvas de crecimiento obtenidas durante los ensayos biológicos de la Relación de la Eficiencia de la Proteína (REP) y Relación Neta de la Proteína (RNP).

Gráfica 1. Incremento de peso en ratas vs tiempo durante los ensayos biológicos de la REP y la RNP.



Se observó que los grupos alimentados con ambas dietas de caseína presentaron un mayor crecimiento, esto puede deberse a la naturaleza de la proteína, siendo la caseína de origen animal y de mayor calidad que la proteína de la chía.

Los grupos de animales alimentados con ambas dietas de chía obtuvieron un menor crecimiento, sin embargo los animales de la dieta de chía+Fe presentaron un mayor incremento de peso que los animales de la dieta de chía.

Es importante mencionar la variabilidad intraespecie, es decir, cada animal tiene características fisiológicas diferentes y puede ingerir una cantidad de alimento diferente lo cual recae en el crecimiento.

6.5 CALIDAD PROTEÍNICA DE LA SEMILLA DE CHÍA Y CASEÍNA.

En la Tabla 8 se muestran los resultados de los ensayos biológicos REPa, RNPa y % Da.

Tabla 8. Resultados de Ensayos Biológicos (REPa, RPN_a, % Da)

Dieta	REPa	RPN _a	%Da
Caseína	2.50 ± 0.31b	4.10 ± 0.26b	85.47 ± 0.00
Caseína+Fe	2.39 ± 0.08b	4.14 ± 0.34b	89.30 ± 0.24
Chía	1.71 ± 0.15a	2.52 ± 0.31a	75.70 ± 1.97
Chía+Fe	1.98 ± 0.13ab	2.75 ± 0.17a	72.08 ± 0.08

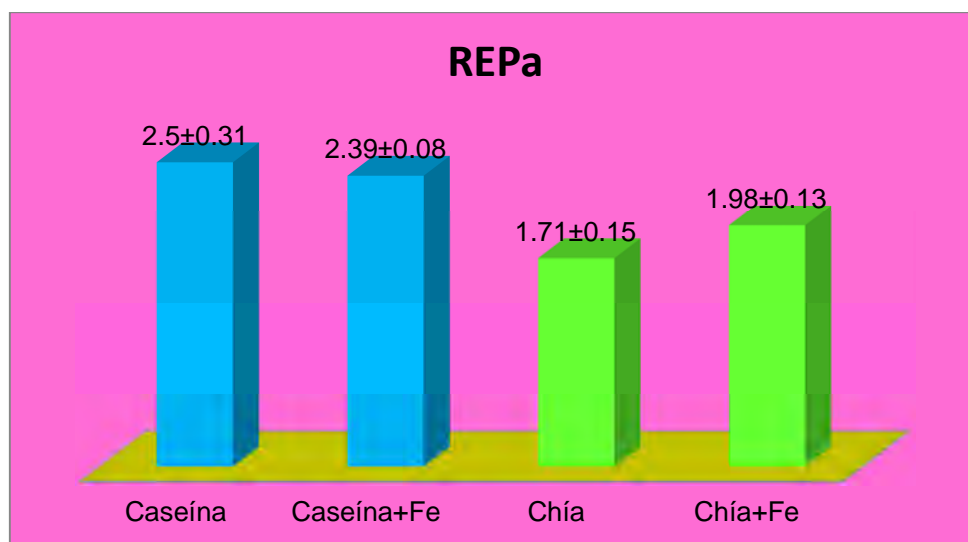
¹ Valores promedio de Da, REPa y RNP_a experimentales ± desviación estándar, n=6

Nota: Letras diferentes en cada columna indica diferencia significativa (p<0.05)

6.5.1 Relación de la Eficiencia de la Proteína

En el Gráfico 2 se muestran los resultados de la REPa de de la dietas de caseína, caseína+Fe, chía y chía+Fe.

Gráfico 2. Resultados de la Relación de Eficiencia Proteínica ajustado (REPa)



Se observó que para las dietas de caseína y caseína adicionada con hierro no existe diferencia significativa de acuerdo al análisis estadístico que se encuentra en el Anexo 12.

Al comparar las dietas de caseína y caseína adicionada con hierro contra la dieta de chíá adicionada con hierro no se encontró diferencia significativa. Una posible causa es que el consumo de alimentos en los animales fue mayor que en la dieta de chíá, por lo tanto al incrementar el consumo de alimentos, aumenta la ingesta de aminoácidos.

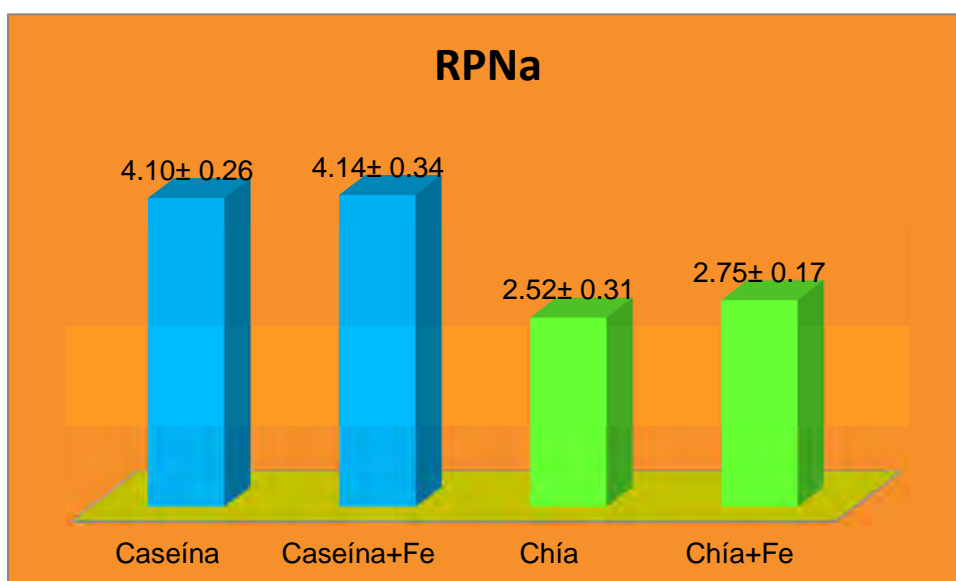
Por otro lado el análisis estadístico mostró que no hay diferencia significativa entre las dietas de chíá y chíá adicionada con hierro, esto era de esperarse ya que la fuente de proteína era la misma y el hierro no influye en el aprovechamiento de ésta.

Si se compara el valor de la REPa obtenido en la dieta de chíá (1.71) y chíá adicionada con hierro (1.98) con el de otros cereales como el trigo (1.5), maíz (1.2) se observa que es superior; y similar a la avena (1.8) y cebada (1.8). Por otra parte si se compara contra leguminosas como el frijol negro (1.19) y las habas (1.53), se observa que sigue siendo superior, una posible causa puede ser que la chíá es rica en aminoácidos azufrados y las leguminosas son deficientes en éstos, esto podría afectar el balance de aminoácidos y por consiguiente la calidad de la proteína (Robinson, 1999; Alonso, 2009; Lorán, 2013).

6.5.2 Relación Neta de la Proteína

En el Gráfico 3 se muestran los resultados de la RNPa de la dieta de caseína, caseína+Fe, chíá y chíá+Fe. Se encontró que no hay diferencia significativa entre las dietas de caseína y caseína adicionada con hierro y esto era de esperarse ya que el hierro no tiene ningún efecto con respecto a la calidad de la proteína.

Gráfico 3. Resultados de la Relación Neta de la Proteína ajustado (RNPa).



Con respecto a los valores de RNPa obtenidos para la dieta a base de chíá y chíá adicionada con hierro se encontró que no existe diferencia significativa. Mientras que se encontró diferencia significativa entre los valores de RNPa de las dietas a base de caseína y las dietas a base de chíá, por lo que se confirma que la calidad de la proteína de chíá es menor que la de referencia, ya que la caseína proporciona en mayor cantidad todos los aminoácidos indispensables.

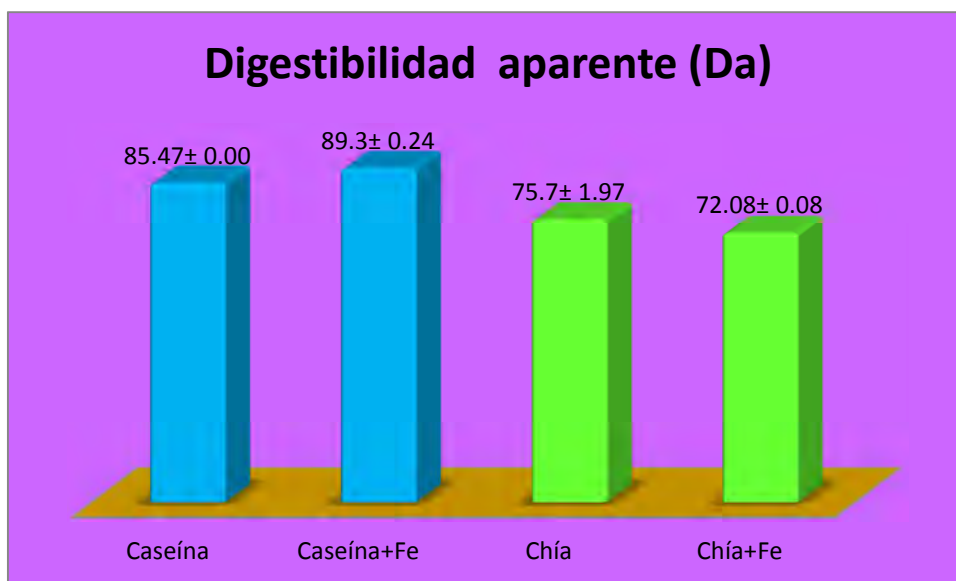
Sin embargo al comparar los valores de RNPa de la dieta a base chíá (2.52) contra otra fuente de origen vegetal como el frijol negro (2.28) se observa que es superior; y al comparar el valor de la dieta de chíá adicionada con hierro (2.75) contra el valor de frijol negro adicionado con hierro (2.27) se tiene el mismo comportamiento. Lo cual puede sugerir que la semilla de chíá puede ser una buena fuente de proteína vegetal (Lorán, 2013).

6.6 Digestibilidad aparente

En el Gráfico 4 se presentan los resultados de digestibilidad aparente de las dietas de caseína, caseína+Fe, chíá y chíá+Fe.

Con base en los resultados de digestibilidad aparente se observa el siguiente comportamiento: La dieta de caseína+Fe tuvo mayor digestibilidad (89.3%), seguida de la dieta de caseína (85.47%), la dieta de chíá (75.7) y finalmente la dieta de chíá+Fe (72.08%). Se observa que las dietas a base de chíá presentaron menor digestibilidad que las dietas a base de caseína.

Gráfico 4. Resultados sobre la Digestibilidad aparente (Da)



Hay varias razones por las cuales la digestibilidad puede variar, por ejemplo el origen y la conformación de la proteína, en este caso la proteína de caseína es de origen animal y cuenta con un balance adecuado de todos los aminoácidos indispensables, en cambio la proteína de chía es de origen vegetal, y a pesar de que contiene todos los aminoácidos indispensables, la proporción de éstos es mayor en las proteínas de origen animal.

La digestibilidad podría verse afectada también por la cantidad de fibra y el tamaño de partícula por ello se molió la semilla ya que se ha visto que la digestibilidad de los cereales puede incrementarse mediante el molido.

Finalmente las diferencias biológicas (metabolismo) existentes entre los individuos pueden afectar su capacidad para digerir las proteínas y absorber los aminoácidos (Jean, 1999), los factores anteriormente mencionados podrían explicar el por qué las dietas de chía presentaron menor digestibilidad que las dietas de caseína.

Por otra parte, si se compara el valor de digestibilidad experimental obtenido en las dietas de chía (75.7%) y chía+Fe (72.08%) con el reportado por Fernández en chía (74.81%) se observa que es un valor similar. Comparado con otro cereal como la avena (49%), y avena adicionada con hierro (69.91%), la digestibilidad de la semilla de chía es mayor. También es mayor que en

leguminosas ampliamente conocidas como el frijol negro (60.6%) y el garbanzo (63.17%), lo cual nos confirma que la proteína de la semilla de chía es de buena calidad (Fernández, 2006; Del Real, 2012; Flores, 2012; Lorán, 2013).

Finalmente, para corroborar que la presencia de hierro puede variar la digestibilidad aparente, se necesitan hacer más repeticiones, ya que en la dieta de caseína adicionada con hierro se observa una tendencia a aumentar la digestibilidad, sin embargo, para la dieta de chía adicionada con hierro sucedió el efecto contrario.

6.7 BALANCE DE HIERRO

En la Tabla 9 se presentan los resultados obtenidos del balance de hierro.

Tabla 9. Balance de hierro¹

DIETA	Fe _{ingerido} (mg/100g)	Fe _{fecal} (mg/100g)	Balance Fe (mg/100g)	% Balance Fe
Caseína	17.00 ± 0.13	3.74 ± 0.16	13.26 ± 0.09	78.48 ± 0.24
Caseína + Fe	113.00 ± 0.02	61.72 ± 0.26	51.28 ± 0.11	45.34 ± 0.28
Chía	1.72 ± 0.13	0.59 ± 0.03	1.13 ± 0.13	65.45 ± 3.23
Chía + Fe	20.83 ± 4.49	3.06 ± 0.78	17.77 ± 3.72	85.38 ± 0.82

¹Los valores de biodisponibilidad se calcularon por triplicado ± desviación estándar n=3

Con respecto a la dietas de caseína se obtuvo mayor balance de hierro en la dieta donde no se adicionó fumarato ferroso (78.48%), sin embargo para las dietas a base de chía se encontró que la dieta adicionada con fumarato ferroso obtuvo un mayor balance de hierro (85.30%).

La baja biodisponibilidad del hierro en la dieta de caseína+Fe probablemente se deba a que la caseína contiene grandes cantidades de fosfoserina formando quelatos con el hierro y por consiguiente se reduce la absorción de éste. Caso contrario a la caseína, se observa que el balance de hierro aumentó en la dieta de chía adicionada con fumarato ferroso, estudios realizados en ratas, indican que la fibra no afecta a la absorción de hierro debido a que las ratas tienen gran capacidad para hidrolizar la pectina y el fitato, ya que tienen mucha fitasa intestinal (la raza humana prácticamente no tiene), además existen estudios

que sugieren que una cantidad adecuada de fibra puede mejorar el balance de hierro, en este caso el contenido de fibra en la semilla de chía es relevante, por lo que pudo haber afectado positivamente la absorción este micronutriente (Dreher, 2001, Urdampilleta, 2010).

7. CONCLUSIONES

- Se encontró que la semilla de chía (*Salvia hispanica*) tiene un alto contenido de proteína 22.30 g/100 g, 32.84 g/100 g de grasa, 17.07 g/100 g de fibra y un contenido de 3.69 g/100 g de cenizas.
- El contenido de micronutrientes en la semilla de chía es de 138.2mg/100g de calcio y 17.29 mg/100g de hierro.
- Las curvas de crecimiento de los ensayos biológicos de la REP y RNP muestran que los animales alimentados con las dietas a base de chía presentaron menor crecimiento que aquellos que fueron alimentados con las dietas a base de caseína.
- Con base a los resultados de la Relación de Eficiencia de la Proteína (REPa) y de la Relación de Proteína Neta (RPNa) y Digestibilidad aparente (Da) se determinó que la proteína de la semilla de chía es de baja conversión en comparación con la caseína, reportando diferencia significativa, esta diferencia se atribuye al perfil de aminoácidos y a la cantidad de fibra que contiene la chía reduciendo la absorción de los aminoácidos.
- La adición de hierro en la dieta de chía mejoró el balance de hierro, sin embargo se observó el efecto contrario en la dieta de caseína por la formación de quelatos con el hierro.
- Los resultados obtenidos formarán parte de una base de datos sobre la calidad proteínica de distintas fuentes animales y vegetales, que sirvan de consulta para los alumnos de la carrera de Química de Alimentos.

8. BIBLIOGRAFÍA

Adrian, J., Potus, J., Poiffait, A., Dauvillier, P. *Análisis nutricional de los alimentos*. Editorial Acribia, Zaragoza, España: 247-262 (2000).

Álvarez, L., Valdivia, L., Aburto, J., Tecante, A. *Chemical Characterization of the Lipid Fraction of Mexican Chia Seed (Salvia hispanica L.)* International Journal of Food Properties. 11 (3): 687-697 July (2008).

Alonso, J. *Viejos remedios para nuevas dolencias, actualidad de los fitomedicamentos*. Revista de fitoterapia. Volumen 9 (1): 23-26 (2009).

AOAC, *official methods of analysis of AOAC international*, Hoewitz, W. 17^h Edition, Vol. II (45.3.04) Gasthersburg (2005).

Astisarán, I., Martínez, J. *Alimentos, composición y propiedades*. Editorial Mc Graw Hill. Primera edición: 135-144, 157 (1999).

Atlas, J. *Bio y gastrodiversidad. alimentos y nutrición aportes de la flora y fauna tradicional*. Primera Edición. Editorial Rosario Corpus. Argentina: 214, 215 (2011).

Ayerza, R. *Fatty acid composition, protein and oil content of chia (Salvia hispanica L.)* Columbia and Argentina. Third European Symposium on Industrial Crops and Products, Reims, France: 229, 233 (1996).

Ayerza, R., Coates, W. Chia seeds: new source of omega-3 fatty acids, natural antioxidants, and dietetic fiber, Southwest Center for Natural Products Researcher & Commercialization, Office of Arid Lands Studies, Tucson, Arizona, USA: 3 (2001).

Ayerza, R., Coates, W. Chia: rediscovering a forgotten crop of the Aztecs. Del Nuevo Extremo. Buenos Aires, Argentina: 101-104, 122, 123, 132 (2006).

Ayerza, R. *Seed composition of two chia (Salvia hispanica L.) genotypes which differ in seed color*. J. Food Agric. 25 (7): 495-500 (2013).

Beltrán, M., Romero, M. *La Chía Alimento Milenario*. Septiembre-Octubre. Industria Alimentaria, México: 20-29 (2003).

Bendaña, G. *Agua, agricultura y seguridad alimentaria en las zonas secas de Nicaragua*. Primera edición. Nicaragua: 138-142 (2012).

Bender, E. *Nutrición y Alimentos Dietéticos*. Segunda edición Editorial Acribia, Zaragoza, España: 230-235 (1995).

Boccio, J., Monteiro, B. *Fortificación de alimentos con hierro y zinc pros y contras desde un punto de vista alimenticio y nutricional*. Revista Nutrition, Campinas 17(1) Jan/Mar: 71-78 (2004).

Borneo, R., Aguirre, A., Leon, A. *Chia (Salvia hispanica L) gel can be used as egg or oil replacer in cake formulations*. Journal of the American Dietetic Association: 946-949 (2010).

Bourges, H., Casanueva, E., Rosaldo, J. *Recomendaciones de ingestión de nutrimentos para la población mexicana*. Editorial Médica Panamericana (2005).

Bushway, A., Belya, J. *Chia seed as a source of oil, polysaccharide, and protein*. Journal of Food Science: 1349-1356 (1981).

Bushway, A., Belya, R. *Chia seed as a source of oil*. Journal of Food Science: 120, 121 (1984).

Casanueva E., Kaufer-Horwitz M., Pérez-Lizaur A., Arroyo P. *Nutriología médica*. Tercera edición. Editorial Panamericana, D.F, México: 297 (2010).

Chicco, A., Alessandro, M., Hein, G., Oliva, M., Lombardo, Y. Dietary chia seed (*Salvia hispanica* L.) rich in α -linolenic acid improves adiposity and normalized hypertriacetyl glycerolaemia and insulin resistance in dyslipidemic rats. *British Journal of Nutrition* (101): 41-50 (2009).

Coates, W. *Chía el increíble super nutriente*. Editorial Edaf. Madrid, España: 17-22 (2012).

Cooper, B., L. *Obtención de un Concentrado de Ácidos Grasos Poliinsaturados a partir del Aceite de Chía (*Salvia hispanica*)*. Tesis de Licenciatura, Facultad de Química. UNAM: 1, 2 (2006).

Crispin, L. *Comportamiento Reológico en Flujo estacionario y no estacionario del Mucilago de Chía (*Salvia hispanica*)*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Química. UNAM:1 (2006).

Cunniff, P. *Official methods of analysis of AOAC international*, 16 edición, USA. (1995).

Delgado, M. *Evaluación de la Calidad Proteica y Factores Antinutricios a Productos Procesados de *Canavalia ensiformis**. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Yucatán: 8 (1999).

Del Real, D. *Evaluación nutrimental y biodisponibilidad de hierro y calcio en avena empleando métodos biológicos*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Química, UNAM: 62 (2012).

Dendy, D., Bogdan, J. *Cereales y productos derivados, química y tecnología*. Editorial Acribia, Zaragoza, España: 465-471 (2004).

Dreher, M., Sung, S. *Handbook of dietary fiber*. Editorial Marcel Dekker. New York. USA: 1,2, 219-224 (2001)

Duarte, A. *Propiedades Reológicas en Disolución Acuosa del mucílago Extraído de la Semilla de Chía (Salvia hispanica L.)* Tesis. Facultad de Química. UNAM: 3-8 (2011).

Fennema, R. *Química de los alimentos*. Segunda edición. Editorial Acribia, Zaragoza. España: 634-637, 736-767 (1995).

Fernández, I., Ayerza, R., Coates, W., Viduerios, S. *Nutritional Characteristics of chia*. Comunicaciones breves (2006).

Fischer C., Kordas K., Stoltzfus R. Interactive effects of iron and zinc on Biochemical and functional outcomes un supplementation trials. *Am Journal of Clinical Nutrition* (82):5-12 (2005).

Fitó C., M. *Efectos antioxidantes del aceite de oliva y de sus compuestos fenólicos*. Tesis Doctoral. Departamento de Medicina de la Universidad de Barcelona. España: 5-9 (2003).

Flores, C. *Estudio analítico de la Salvia hispanica L.* Tesis de Licenciatura, Facultad de Química, UNAM (1938).

Flores, S. *Evaluación nutrimental y biodisponibilidad de hierro y calcio en garbanzo empleando métodos biológicos*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Química, UNAM: 75 (2012).

Franco, A., Shamah, T., Cuevas, L. *Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) 2012*. Resultados Nacionales. Primera edición. Instituto Nacional de Salud Pública. México: 129-191 (2012).

González, F., Beltrán-Orozco, M., Vargas, M. *Evaluación de la Capacidad Antioxidante y Determinación de Fenoles Totales presente en la semilla y aceite de chía (Salvia hispánica L.)*. XVIII National congress of Biochemical Engineering, VII International congress of Biochemiicall Engineering, VIII

Biomedicine and Molecular Biotechnology Meeting. Acapulco, Guerrero: 1-6 (2010).

González, K. *Determinación de hierro en hortalizas, cereales y leguminosas por espectroscopía visible*. Tesis de Licenciatura. Departamento de Analítica Facultad de Química (UNAM): 6-10 (2007).

Gunnar, F., Nordberg, A. , Lars, F. *Hanbook on the toxicology of metals*. Tercera edición. Editorial Elsevier: 575-577, 580,-595 (2007).

Hernández, J., Miranda, S. *Caracterización Morfológica de Chía (Salvia hispanica)*. Revista Fitotecnia Mexicana, abril-junio, vol.31, Chapingo, México: 105-113 (2008).

Hernández, G. *Proteínas de chía (Salvia hispanica): Estudio para valorar sus propiedades como formadoras de películas*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Química. UNAM: 7, 10, 11 (2007).

Heuer, B., Yaniv, Z., Ravina, I. Effect of late salinization of chia (*Salvia hispánica*), stock (*Matthiola tricuspidata*) and avening primrose (*Oenothera biennis*) on their oil content and quality, *Ind. Crops Prod*:15 (2002).

Ixtaina, V. *Caracterización de la Semilla y el aceite de Chía (Salvia hispanica L.) Obtenida Mediante Distintos Procesos. Aplicación en Tecnología de Alimentos*. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Exactas. Departamento de Química. Universidad Nacional de La Plata. Argentina: 69-75 (2010).

Jaimes, C. *Analytical Chemistry of foods*. Segunda edición. Publicaciones Aspen. New York (1999).

Jean, 1999

Kathleen, M. *Nutrición y Dietoterapia de Krause*. Décima edición. Editorial Mc Graw-Hill Interamericana,D.F., México: 122-143 (2001).

Lorán, R. *Evaluación de la calidad nutrimental de la harina de frijol negro (Phaseolus vulgaris) adicionada con hierro y calcio*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Química, UNAM: 47 (2013).

Masson, S. *Composición Proximal y Etiquetado Nutricional de una muestra de semilla de Chia (Salvia hispanica)*. Laboratorio de Química de Alimentos y Materias Grasas. Departamento de Ciencia de los Alimentos y Tecnología Química. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Universidad de Santiago de Chile: 2, 3 (2006).

Mataix, J. García, L., Mañas, M., Martínez, E. *Tabla de composición de alimentos*. Cuarta edición. Editorial Universidad de Granada. Granada. España: 245 (2003).

Monroy, R., Mancilla, M., Gllaga, J., Medina, S. Protein digestibility of chia seed *Salvia hispanica L.* *Revista Salud pública y nutrición*. 9 (1): (2008)

Nielsen, S. *Food analysis*. Aspen publication. Segunda edición, Gaithersburg, Maryland (1998).

Nolasco, S. *Desarrollos con semillas de chíá para prolongar la vida de los alimentos*. Facultad de Ingeniería - Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires, Argentina. *Diario El Popular*. Mayo (2012).

Nollet, M. *Hanbook of food analysis*. Editorial Dekker. New York (1996).

Norma Oficial Mexicana NOM-247-SSA1-2008, Productos y servicios. Cereales y sus productos. Cereales, harinas de cereales, sémolas o semolinas. Alimentos a base de: cereales, semillas comestibles, de harinas, sémolas o semolinas o sus mezclas. Productos de panificación. Disposiciones y especificaciones sanitarias y nutrimentales. Métodos de prueba (2008).

Palomo, F. *Uso de hierro endovenoso en el tratamiento de anemia ferropénica en un hospital de alta especialidad*. Tesis de postgrado Facultad de Medicina División de Estudios de Posgrado. Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado CMN "20 de Noviembre" Servicio de Hematología. México: 3-9 (2011).

Pearson, D. *Técnicas de laboratorio para el análisis de alimentos*. Editorial Acribia. Zaragoza, España (1993).

Peiretti, G., Gai, F. *Fatty acid nutritive quality of chia (Salvia hispanica L.) seeds and plant during growth*, Animal Feed Science and Technology, (148): 267-275 (2008).

Peiretti, G. *Características de ensilabilidad de chíá (Salvia hispanica L.) durante el ciclo de crecimiento y patrón de fermentación de sus ensilajes afectados por los niveles de marchitez*. Revista Cubana de Ciencia Agrícola, Instituto de Ciencia Animal Cuba 44 (1): 33-36 (2010).

Pérez, J. *Nutrición Energética y Salud (bases para una alimentación con sentido)*. Tercera edición. Editorial DeBolsillo. Barcelona, España: 328-329 (2007).

Pizarro, A., Olivares G., Kain, B. *Hierro y Zinc en la dieta de la población de Santiago*. Revista Chilena de Nutrición 32 (1):19-27 (2005).

Prochazka, R., Tagle, M. *Hemocromatosis Hereditaria: Reporte de caso clínico y revisión de literatura*. Revista Gastroenterol, Perú 26: 312-317 (2006).

Reyes, E., Tecante, A., Valdivia, M. A. *Dietary fiber content and antioxidant activity of phenolic compounds present in mexican chia (Salvia hispanica L.) seeds*. Food Chemistry 107: 656-663 (2008).

Robinson, D. *Bioquímica y valor nutritivo de los alimentos*. Editorial Acribia. Zaragoza, España: 234-239 (1999).

Rodak, B. *Hematología: fundamentos y aplicaciones clínicas*. Segunda edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires, Argentina: 117-121 (2004).

Ruiz, G. *Fundamentos de Hematología*. Cuarta edición. Editorial Medica Panamericana. Madrid, España: 214-216 (2009).

Sierra, I., Lorante, Z., Pérez, D. *Experimentación en Química Analítica*. Editorial DYKINSON: 109 (2007).

Soriano, M. *Nutrición Básica Humana*. Primera edición. Editorial Guada Impresores. España: 220-224, 280-283 (2006).

Thompson, U., Zhang, L. *Phytic Acid and Minerals: Effect on early markers of risk formammary and colon carcinogenesis*. *Carcinogenesis* (12): 2041-2045 (1991).

Trejo M., A. *Cuantificación de hierro biodisponible mediante un método in vitro en alimentos de origen animal y vegetal (crudos y cocidos)*. Tesis de Licenciatura. Departamento de farmacia. Facultad de Química, UNAM (2006).

Urdampilleta, A., Martínez, J., González-Muniesa, P. *Dietary nutritional intervention in the prevention of iron deficiency*. *Nutrición Clínica Dietética y Hospitalaria*, Valencia, España 30(3): 27- 41 (2010).

Vazquez, A., Rosado, G., Chel, L., Betancur, D. *Physicochemical properties of a fibrous fraction from chia (Salvia hispanica L.)* *Food Science and Technology*: 168-173 (2008).

Vega, S., Gutierréz T., Coronado, M., Pérez, J., Ramírez, L. *Adición de aceite de chía (Salvia hispanica) como fuente de ácidos grasos omega-3 en chorizo*. Departamento de Producción Agrícola y Animal de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco: 100-108 (2010).

Velasco, I. *Extracción y caracterización del aceite de chía (Salvia hispanica)*. Reporte de laboratorio Experimental de Alimentos. Departamento de Biotecnología y Alimentos, Edificio E: 1-7 (2003).

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 de Licenciatura. Facultad de Química, UNAM: 48-55. (2011).

Waizel, J. *Las plantas medicinales y las Ciencias. Una visión multidisciplinaria*. Primera edición, IPN, D.F., México: 188, 203, 213, 331 (2006).

Wilma, F. *Estudio sobre la anemia por deficiencia de hierro: estrategias de la OPS/OMS para combatirla*. Navegador: Ecosia. México: 198, 199 (1998).

Wioletta, B. *Chemical composition and nutritive value of husked and naked oats grain*. Journal of Cereal Science. 49: 413-418 (2009).

9. Abreviaturas

a de C: antes de Cristo

AG: Ácidos Grasos

AOAC: Association of Official Analytical Chemists

CICUAL: Comité Interno para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio

Da: Digestibilidad aparente

DHA: Ácido Docosahexanóico

DLN: Dieta Libre de Nitrógeno

DMT-1: Molécula Transportadora de metales Divalentes

ENSANUT: Encuesta Nacional de Salud y Nutrición

EPA: Ácido Eicosapentaenóico

FAO: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (Food and Agriculture Organization of the United Nations)

FDT: Fibra Dietética Total

FOS: Fructooligosacáridos

FOScc: Fructooligosacáridos de cadena corta

HC: Hidratos de carbono

HCl: Ácido clorhídrico

IDS: Ingesta Diaria Sugerida

OMS: Organización Mundial de la Salud

REP: Relación de la Eficiencia de la Proteína

REPa: Relación de la Eficiencia de la Proteína ajustado

RNP: Relación Neta de la Proteína

RNPa: Relación Neta de la Proteína ajustado

10. ANEXO I (Metodologías)

Determinación de humedad (método por secado en estufa)

Material

- ✓ Desecador
- ✓ Espátula
- ✓ Pesafiltros con tapa
- ✓ Pinzas para pesafiltros
- ✓ Silica

Equipo

- ✓ Balanza analítica (Sartorius Analytic Mod. A210P)
- ✓ Estufa (Lab-Line Instrument Inc. Mod. 29380)

Procedimiento

Pesar de 2 a 3 g de muestra preparada en un pesafiltro con tapa, que ha sido previamente pesado después de ponerlo a peso constante 2 horas a $130 \pm 3^\circ\text{C}$. Secar la muestra durante 2 horas en estufa a $100\text{-}110^\circ\text{C}$ con la tapa del pesafiltro a un lado. Retirar de la estufa, tapar, dejar enfriar en desecador y pesar tan pronto como se equilibre con la temperatura ambiente. Repetir hasta peso constante.

Calcular el porcentaje de humedad, reportándola como pérdida por secado a $100\text{-}110^\circ\text{C}$.

Determinación de Proteína cruda

Material

- ✓ Agitador de vidrio
- ✓ Bureta graduada de 50 mL
- ✓ Espátula
- ✓ Franela limpia

- ✓ Gradilla de metal para tubos Kjeldahl
- ✓ Matraz aforado de 100 mL
- ✓ Matraz aforado de 50 mL
- ✓ Matraz Erlenmeyer de 250 mL
- ✓ Papel cebolla
- ✓ Pinzas de tres dedos con nuez
- ✓ Pipeta graduada de 10 mL
- ✓ Probeta 100 mL
- ✓ Propipeta o jeringa
- ✓ Soporte universal
- ✓ Tubos de Kjeldahl para digestión
- ✓ Vasos de precipitado de 100 mL
- ✓ Vasos de precipitado de 250 mL

Equipo

- ✓ Equipo de digestión para Kjeldahl (Buchi)
- ✓ Equipo de destilación para Kjeldahl (Buchi)

Reactivos

- ✓ Ácido bórico R.A.
- ✓ Ácido clorhídrico 0.1N
- ✓ Ácido o-fosfórico R.A.
- ✓ Ácido sulfúrico concentrado R.A.
- ✓ Agua destilada
- ✓ Agua oxigenada (H₂O₂) al 30%
- ✓ Etanol R.A.
- ✓ Glucosa R.A.
- ✓ Fenolftaleína R.A.
- ✓ Hidróxido de sodio R.A.
- ✓ Rojo de metilo R.A.
- ✓ Sulfato de sodio o potasio R.A.
- ✓ Sulfato de cobre pentahidratado R.A.
- ✓ Verde de bromocresol R.A.

Preparación de reactivos

I) Mezcla digestiva: disolver 3 g de sulfato de cobre pentahidratado en 20 mL de agua destilada; a continuación agregar 50 mL de ácido o-fosfórico y una vez que esté bien disuelta la sal, adicionar con mucho cuidado y resbalando por la pared del recipiente 430 mL de ácido sulfúrico concentrado. Esta mezcla se deja agitando por aproximadamente 30 minutos.

II) Solución indicadora A: pesar 100 mg de fenolftaleína y disolver con etanol. Aforar a 100 mL con etanol.

III) Solución indicadora B: pesar 33 mg de verde de bromocresol y 66 mg de rojo de metilo, los cuales se disuelven y aforan a 100 mL de alcohol etílico.

IV) Solución de ácido bórico al 0.5% con indicadores: disolver 5 g de ácido bórico en 800mL de agua destilada, adicionar 35 mL de la solución II y 10 mL de la solución III. Mezclar y adicionar suficiente agua hasta dejar un espacio de 2 cm en el cuello del matraz aforado, ajustar el color de esta solución con ácido o base a un tono café rojizo y por último aforar a 1 litro con agua destilada.

V) Solución de hidróxido de sodio al 36%: disolver 36 g de NaOH en 75 mL de agua destilada y llevar a un volumen final de 100 mL.

VI) Ácido clorhídrico 0.1 N: esta solución debe estar exactamente valorada hasta la cuarta cifra decimal.

Procedimiento

Digestión de la muestra:

Pesar en papel cebolla 0.1 g de la muestra molida y depositar en el tubo de digestión la muestra con todo y papel para que no se adhiera el polvo a las paredes, agregar 0.5 g de sulfato de potasio o de sodio, y 8 mL de mezcla digestiva (solución I), colocar el tubo en el digestor a una temperatura menor de 340 °C durante 15 minutos.

Sacar el tubo y dejar enfriar, agregar 3 mL de H₂O₂ al 30%. Colocar nuevamente el tubo en el digestor a 360 °C hasta que termine la digestión (el líquido debe quedar translúcido, incoloro o verde azulado) dejar enfriar el tubo

antes de destilar. Se debe hacer una corrección con un blanco de reactivos y del papel usado para pesar la muestra, en el cual se utiliza glucosa o sacarosa (aproximadamente 100 mg) y se trabaja de la misma manera que la muestra.

Destilación:

Conectar el aparato de destilación y esperar unos instantes para que se genere vapor. Colocar el tubo de digestión con la muestra diluida (diluir la muestra digerida con 10 mL de agua destilada) en el aparato de destilación cuidando de introducir la alargadera hasta el fondo de la solución. Colocar a la salida del dispositivo de destilación un matraz Erlenmeyer con 50 mL con solución de ácido bórico (medido con probeta); a continuación con el botón correspondiente descargar la solución de hidróxido de sodio al 36% (solución V) hasta que ésta vire a un color oscuro, inmediatamente iniciar la corriente de vapor (prender el botón "vapor") para destilar el amoníaco generado, que se atrapa en la solución de ácido bórico. Se continúa la destilación hasta tener aproximadamente un volumen de 100 mL. Retirar el matraz receptor del dispositivo enjuagando la punta con agua destilada (El tubo que contiene el residuo alcalino se enfría y se deposita en el "Recipiente de desechos alcalinos").

Titulación:

El amoníaco atrapado en la solución de ácido bórico se titula con la solución valorada de HCl 0.1 N (solución VI) hasta que vire de verde a un color rojo fresa.

Cálculos

$$\%N = \frac{[(V_m - V_b) \times meq \times NHCl \times 100]}{m}$$

Donde:

%N = porcentaje de nitrógeno (nitrógeno g/100 g de muestra)

V_m = volumen gastado en la muestra

V_b =volumen gastado en el blanco

meq= miliequivalente del nitrógeno ($PM/1000 = 0.014$)

NHCl = normalidad de la solución de HCl

m = gramos de muestra

$$\% P = \% N \times F$$

% P = porcentaje de proteína

F = factor de conversión

Determinación de grasa cruda (método Goldfish)

Material

- ✓ Algodón
- ✓ Anillo de hierro
- ✓ Cartuchos de celulosa
- ✓ Espátula
- ✓ Probeta de 50 mL
- ✓ Vasos Goldfish

Equipo

- ✓ Balanza analítica (Sartorius Analytic Mod. A210P)
- ✓ Equipo Goldfish

Reactivos

- ✓ Éter de petróleo R.A.

Procedimiento

Colocar un vaso para Goldfish en la estufa durante 2 horas a 100 °C, después enfriar y pesar. Repetir hasta peso constante. Pesar en un cartucho de celulosa de 4 a 5 g de muestra, tapar con algodón y colocarlo en un recipiente con el fondo perforado. El sostenedor se coloca en el aparato. Por otro lado, en el vaso para Goldfish ya pesado, se adicionan aproximadamente 40 mL de

éter de petróleo y se coloca en el Goldfisch con ayuda de un anillo de hierro con empaque de hule. Se sube la parrilla dando medio giro para un lado y después para el otro. Calentar durante 4 horas y comprobar que la extracción haya sido completa, para ello descargar una gota sobre un vidrio de reloj o sobre papel filtro, al evaporarse el éter no debe dejar residuo de grasa.

Al finalizar se cambia el sostenedor con el cartucho por otro recipiente cerrado sin perforación y se vuelve a calentar para de esta manera recuperar el éter en el vaso, después éste se retira del aparato y se introduce en la estufa por 30 minutos, finalmente se deja enfriar en el desecador y se pesa.

Cálculos

$$\%Grasa\ cruda = \frac{E - V}{M}$$

Donde:

E= peso matraz con extracto

V= peso matraz vacío

M= peso de la muestra en gramos

Determinación de cenizas

Material

- ✓ Crisoles de porcelana
- ✓ Desecador
- ✓ Espátula
- ✓ Pinzas para crisol

Equipo

- ✓ Balanza analítica (Sartorius Analitic Mod. A210P)
- ✓ Mufla (THERMOLYNE, Type 1500 Furnace, 0-1200 °C)

Procedimiento

Pesar aproximadamente de 3 a 5 g de muestra en un crisol (la muestra no debe sobrepasar la mitad del crisol) previamente pesado después de meterlo a la mufla 2 h a 600 °C. Calcinar la muestra, para ello carbonizar primero con mechero hasta que no se desprendan humos y meter a la mufla cuidando que la temperatura no pase de 550 °C para evitar que los cloruros se volatilicen. Se suspende el calentamiento cuando las cenizas estén blancas o grises, aproximadamente 2 a 3 h (si se observan puntos negros, se humedecen con unas gotas de agua destilada, se secan en la estufa a 130 °C y se vuelven a calcinar). Enfriar en desecador y pesar.

Calcular el porcentaje de cenizas.

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{(\text{peso crisol con cenizas} - \text{peso crisol vacío}) \times 100}{\text{peso de muestra en gramos}}$$

Determinación de fibra cruda

Material

- ✓ Fibra de vidrio
- ✓ Agitador de vidrio
- ✓ Crisoles
- ✓ Embudos California
- ✓ Vasos de precipitado de 50 mL
- ✓ Pinzas para crisol
- ✓ Probeta de 200 mL

Equipo

- ✓ Balanza analítica (Sartorius Analitic Mod. A210P)
- ✓ Estufa (Lab-Line Instrument Inc. Mod. 29380)
- ✓ Mufla (THERMOLYNE, Type 1500 Furnace, 0-1200 °C)
- ✓ Parrilla de calentamiento (LABCONCO Mod. 61354))

Reactivos

- ✓ Ácido sulfúrico al 1.25% R.A.
- ✓ Hidróxido de sodio al 1.25% R.A.
- ✓ Antiespumante

Procedimiento

Pesar aproximadamente 5 g de muestra desengrasada (se utiliza la muestra que quedó en el cartucho de la determinación de grasa cruda). Colocar la muestra en el vaso digestor, añadir 1 g de fibra de vidrio, 200 mL de H₂SO₄ al 1.25% (0.255 N) hirviendo y antiespumante. Calentar de inmediato (debe empezar a hervir antes de 1 minuto), mantener en reflujo durante 30 minutos, rotar el vaso periódicamente para incorporar las partículas que se adhieran a la pared del vaso. Filtrar a través de embudos California (conectados a la llave de vacío) y lavar con cuatro porciones de 50 mL de agua caliente hasta que no dé reacción ácida al rojo de metilo. El residuo que quede en el filtro se traslada al vaso digestor limpio y se repite la operación con 200 mL de NaOH al 1.25% (0.313 N) hirviendo y antiespumante.

Después de reflujo durante 30 minutos, filtrar nuevamente sobre el embudo California y lavar con agua caliente hasta obtener pH neutro (aproximadamente 1500 mL de agua).

Pasar cuantitativamente el residuo a un crisol (el cual debe estar a peso constante) e introducirlo a la estufa a 100 °C durante 3 horas, dejar enfriar y registrar el peso.

Posteriormente introducir el crisol a la mufla a 550 °C hasta obtener cenizas blancas o grises, dejar enfriar en el desecador y registrar el peso.

Cálculos

$$\%Fibra\ cruda = \frac{(A - B) \times 100}{m}$$

Donde:

A = peso del crisol con muestra después de 3 h a 100 °C

B = peso del crisol con muestra después de calcinar a 550 °C

m = peso de la muestra original en gramos (corregir el peso de la muestra desengrasada de acuerdo al porcentaje de grasa cruda encontrado).

Determinación de hidratos de carbono

Cálculos

$$\% \text{Hidratos de carbono} = 100 - (\% \text{humedad} + \% \text{cenizas} + \% \text{proteína} + \% \text{grasa} + \% \text{fibra})$$

Determinación de hierro

Material:

- ✓ Crisoles de porcelana
- ✓ Desecador
- ✓ Espátula
- ✓ Embudo de tallo corto
- ✓ Matraz aforado de 50 mL
- ✓ Pinzas para crisol
- ✓ Pipetas graduadas de 1, 5 y 10 mL

Equipo:

- ✓ Espectrofotómetro (Thermo scientific, Mod. Genesys 105 UV-VIS)
- ✓ Mufla (THERMOLYNE, Type 1500 Furnace, 0-1200 °C)
- ✓ Parrilla de calentamiento (LABCONCO Mod. 61354))

Reactivos:

- ✓ Ácido acético R.A.
- ✓ Ácido clorhídrico R.A.
- ✓ Acetato de sodio anhidro R.A.
- ✓ Clorhidrato de hidróxilamina R.A.
- ✓ O-fenantrolina R.A.

✓ Sulfato de hierro y amonio hexahidratado $[\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}]$

Preparación de reactivos

I. Solución 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 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

Pesar de 3 a 4 g de muestra y calcinar hasta eliminar la materia orgánica presente, posteriormente introducir en la mufla hasta obtener cenizas blancas. Adicionar 2 mL de HCl concentrado para disolver las cenizas, someter a calentamiento en una parrilla hasta sequedad en la campana, enfriar. Posteriormente añadir a cada crisol 1 mL de HCl concentrado y 3.5 mL de agua destilada. Disolver las cenizas en su totalidad. Transferir el líquido a un matraz aforado de 50 mL, realizar dos lavados con agua destilada con el propósito de disminuir pérdidas, aforar y filtrar. Del filtrado tomar tres alícuotas de 10 mL y adicionar los reactivos en el siguiente orden: 1 mL de clorhidrato de hidroxilamina (solución I) y se agitó; 5 mL de buffer de acetatos (solución II) y 1 mL de o-fenantrolina (solución III) y agitar durante algunos segundos. Dejar reposar la mezcla de reacción durante 15 minutos. Realizar las lecturas de las absorbancias en el espectrofotómetro a 530 nm. Realizar el procedimiento por triplicado.

Elaborar una curva patrón con 0.0, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 6.0 y 8.0 mL de una solución estándar de hierro (solución IV), ajustar cada uno de los tubos a 10 mL con agua destilada y añadir: 1 mL de clorhidrato de hidroxilamina (solución I); 5

mL de buffer de acetatos (solución II) y 1 mL de o-fenantrolina (solución III) y se agitó durante algunos segundos. Dejar reposar la mezcla de reacción durante 15 minutos. Realizar las lecturas de las absorbancias en el espectrofotómetro a 530 nm, emplear el tubo cero como blanco.

Cálculos

Para determinar la cantidad de hierro en la muestra interpolar la lectura de absorbancia de la muestra en la curva estándar y se considera el aforo, alícuota y peso de la muestra.

Cálculo de hierro en mg/100 g de muestra

$$c = \frac{X * A * 100}{g * a}$$

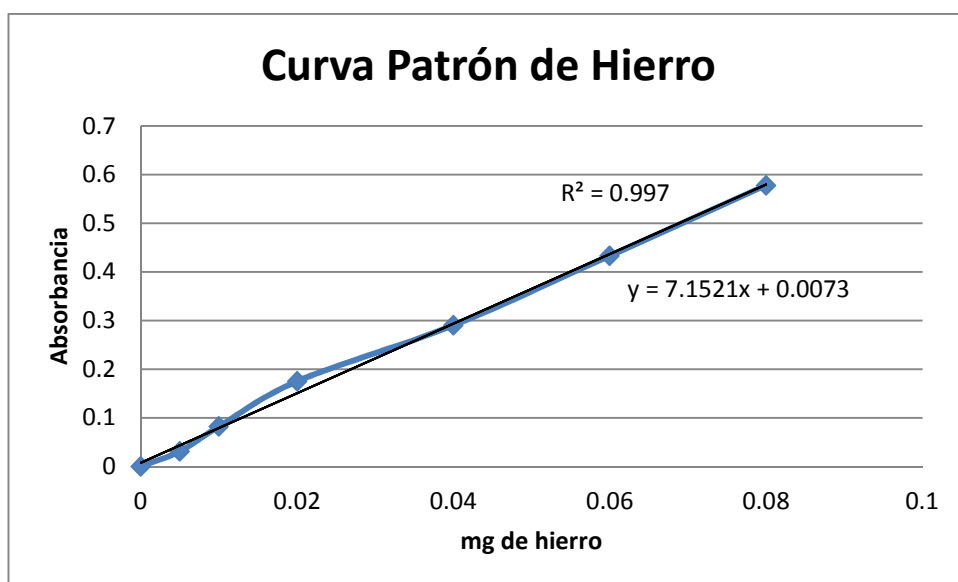
X= masa de Fe expresada en mg

A= Aforo de 50 mL

g= Peso de la muestra en gramos

a= Alícuota de 10 mL

Gráfica 5. Curva Patrón de Hierro.



Determinación de calcio

Material

- ✓ Crisoles de porcelana
- ✓ Desecador
- ✓ Embudo de tallo corto
- ✓ Espátula
- ✓ Matraz aforado de 50 mL
- ✓ Pinzas para crisol
- ✓ Pipetas graduadas de 1, 5 y 10 mL

Equipo:

- ✓ Mufla (THERMOLYNE, Type 1500 Furnace, 0-1200 °C)
- ✓ Parrilla de calentamiento (LABCONCO Mod.61354)

Reactivos

- ✓ Ácido sulfúrico diluido (0.1 N)
- ✓ HCl concentrado
- ✓ Hidróxido de amonio diluido (1:50)
- ✓ Indicador rojo de metilo 0.1%
- ✓ KMnO_4 0.1 N
- ✓ Solución saturada de oxalato de amonio

Preparación de reactivos

- I. Solución saturada de oxalato de amonio: Disolver 100 g en 150 mL de agua destilada.
- II. Solución de permanganato de potasio (KMnO_4) 0.1 N: Pesar 15.6 g de KMnO_4 y aforar a 1 L.
- III. Solución rojo de metilo 0.1%: Pesar 0.1 g y llevar a 100 mL de etanol.

Procedimiento

Calcinar 3 g de muestra a 550 °C hasta obtener cenizas blancas, humedecer con 5 mL de HCl concentrado, evaporar a sequedad utilizando una parrilla eléctrica. Al residuo adicionar 5 mL de HCl concentrado y 25 mL de agua,

calentar hasta inicio de ebullición. Posteriormente filtrar recibiendo en un matraz aforado de 50 mL, lavar cuantitativamente el matraz. Finalmente aforar el volumen. Transferir 25 mL de la solución en un vaso de precipitados de 100 mL, calentar de nuevo a ebullición y adicionar 10 mL de una solución saturada de oxalato de amonio y unas gotas de indicador rojo de metilo, enseguida adicionar hidróxido de amonio gota a gota hasta llegar al punto de neutralización (aparición de color amarillo). Calentar hasta que precipite el oxalato de calcio. Posteriormente enfriar y adicionar HCl diluido hasta obtener una coloración rosa (pH=5). Dejar reposar hasta el día siguiente. Posteriormente filtrar utilizando un filtro de vidrio poroso y lavar con 50 mL de agua destilada caliente. Desechar el agua del filtrado, lavar el matraz Kitasato y se proseguir con la filtración, realizar los lavados con 50 mL de ácido sulfúrico diluido caliente. Titular en caliente con la solución de KMnO_4 0.1 N hasta que se obtenga una coloración rosa permanente.

Cálculos

El porcentaje de calcio en el alimento se calculó utilizando la equivalencia de 1 mL de disolución de KMnO_4 0.1 N equivale a 2 mg de calcio.

$$\% Ca = \frac{(\text{VolKMnO}_4)(0.002\text{gCa})(50\text{mL aforo})}{(1\text{mL KMnO}_4 \text{ 0.1N})(\text{alícuota})(\text{peso muestra})} \times 100$$

Elaboración de dietas para los ensayos biológicos

Materia primas

- ✓ Aceite vegetal (Mazola®)
- ✓ Caseína (MP Biomedicals Inc. 901293)
- ✓ Colina (solución al 50%)
- ✓ Dextrina (Maízena®)
- ✓ Glucosa (USP Comercial Químico BARSA)
- ✓ Manteca vegetal (INCA®)
- ✓ Mezcla de sales (MP Biomedical INC 902842)
- ✓ Mezcla de vitaminas (MP Biomedicals INC 904654)
- ✓ Sacarosa (Comercial Sal Will)

- ✓ Celulosa (SIGMA C-8002)
- ✓ Fumarato Ferroso (Ferval®, 1 tableta 65.74 mg Fe elemental)

Equipo

- ✓ Balanza Granataria
- ✓ Mezcladora Oster®

Tabla 10. Dieta de caseína (referencia)

Ingrediente	Porcentaje
Proteína	10.0
Glucosa	19.0
Sacarosa	22.0
Dextrina	25.0
Aceite Vegetal	6.0
Manteca Vegetal	8.0
Mezcla de Sales	2.0
Mezcla de Vitaminas	1.0
Colina (sol. al 50%)	0.4
Celulosa en polvo	6.6

Procedimiento

Realizar los cálculos para 100 g de cada dieta partiendo del análisis bromatológico de las materias primas y ajustar a la dieta de referencia, pesaron los ingredientes y se homogeneizar con ayuda de una mezcladora Oster, posteriormente se almacenar en recipientes y se refrigerar.

Formulación de las dietas para los ensayos biológicos.

Tabla 11. Formulación de las dietas de caseína* y chía* (g/100g dieta).

Materia prima	Dieta Caseína	Dieta Caseína+Fe	Dieta Chía	Dieta chía+Fe
Caseína (96.4%)	10.6	10.6	-----	-----
Chía	-----	-----	44.8	44.8
Sacarosa	22.0	22.0	19.4	19.4
Glucosa	19.0	19.0	16.7	16.7
Dextrina	25.0	25.0	22.0	22.0
Aceite vegetal	6.0	6.0	0.0	0.0
Manteca vegetal	8.0	8.0	0.0	0.0
Mezcla de sales	2.0	2.0	2.0	2.0
Vitaminas	1.0	1.0	1.0	1.0
Colina (sol 50%)	0.4	0.4	0.4	0.4
Celulosa	3.4	3.4	0.0	0.0
Fumarato ferroso	-----	0.04	-----	0.04

*Las dietas se prepararon de acuerdo a la formulación establecida por la AOAC.

La formulación de dietas tiene como objetivo fundamental conseguir las concentraciones ideales de nutrimentos que permitan hacer frente a las necesidades específicas de los animales del ensayo, por lo que tenemos:

- Caseína o semilla de chía como fuente de proteína.
- Sacarosa, glucosa y dextrina como fuentes de hidratos de carbono.
- Aceite y manteca vegetal como fuente de grasa.
- Celulosa como fuente de fibra cruda.
- Mezcla de sales minerales y vitaminas para cubrir las necesidades de los animales.
- Colina como otra fuente de vitamina que permite el crecimiento de los animales.
- Fumarato ferroso como fuente de hierro.

Determinación de REP

Material

- ✓ Agitador de vidrio
- ✓ Cernidor
- ✓ Comederos y bebederos
- ✓ Cucharas de plástico
- ✓ Franela
- ✓ Mortero con pistilo
- ✓ Papel Manila
- ✓ Pipetas graduadas de 10, 5 y 1 mL
- ✓ Recipiente de plástico
- ✓ Vasos de precipitado de 250 mL

Equipo

- ✓ Balanza granataria para animales
- ✓ Balanza granataria
- ✓ Jaulas de acero inoxidable para cada animal

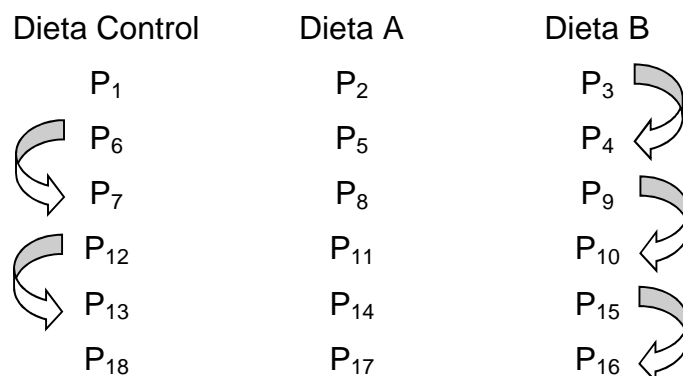
Procedimiento

Realizar el ensayo durante 28 días y emplear ratas macho Wistar recién destetadas de 21 a 23 días y mantenerlas con alimento y agua *ad libitum* en condiciones de 12 horas de iluminación por 12 horas de oscuridad a una temperatura de 23 a 24 °C y una humedad relativa entre 30 a 35%. Cada lote de estudio consto de 6 ratas.

Culebra japonesa

Pesar y ordenar todos los animales de forma ascendente con respecto a su peso. P₁, P₂, P₃, P₄, P₅, P₆ ,.....P_n Colocar los animales en las jaulas individuales del rack siguiendo la distribución de “culebra japonesa” como se indica a continuación:

Figura 2. Culebra japonesa



Una vez distribuidos los animales en las jaulas individuales colocar el comedero con la dieta correspondiente, en cantidad que siempre contenga exceso de alimento para que su consumo sea *ad libitum*, lo mismo se debe hacer con el bebedero. Colocar debajo de cada jaula una charola hecha con papel manila, para recuperar alimento.

Pesar los animales cada tercer día (lunes, miércoles y viernes) y registrar el peso de cada rata y el alimento ingerido considerando el alimento recolectado de la charola de papel manila.

Cálculos

Elaborar la curva de crecimiento de cada uno de los lotes de animales, de las diferentes dietas, incremento en peso (acumulativo) vs tiempo de experimentación.

Calcular la REP de cada animal, de acuerdo a la siguiente fórmula:

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

Donde:

ΔP = Incremento de peso (expresado en gramos)

ΣAI = Alimento ingerido acumulado o total (expresado en gramos) en el tiempo que duró el experimento.

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

Calcular la Relación de la Eficiencia Proteínica Ajustado (REP_a)

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

Dónde:

REP_a = Relación de la Eficiencia Proteínica Ajustado

REP_{EXP} = Relación de la Eficiencia Proteínica Experimental del alimento.

$REP(Caseína)_{EXP}$ = Relación de la Eficiencia Proteínica de caseína Experimental

$REP(Caseína)_{STD}$ = Relación de la Eficiencia Proteínica estándar de caseína = 2.5

Determinación de RNP

Procedimiento

Se utilizó los datos de 10 días de experimentación de la prueba de la Relación de Eficiencia Proteínica (REP).

Calcular el decremento de peso con la ecuación que predice el incremento de peso si los animales hubieran ingerido la dieta libre de nitrógeno propuesta por Venegas, de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\Delta P (DLN) = -0.14(x) - 0.928$$

Donde:

ΔP (DLN) = decremento de peso del animal, si hubieran consumido una DLN, tiempo de experimento 10 días.

X = Promedio del peso inicial de las ratas de cada lote.

Una vez calculado el ΔP de cada rata y alimento consumido se calculó el valor de RNP para cada rata con la siguiente fórmula:

$$RNP = \frac{[\Delta P_{PRUEBA} - \Delta P_{DLN}]}{\Sigma AI \times F}$$

Donde:

ΔP (PRUEBA) = Incremento de peso con la dieta de prueba (g)

ΔP (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)

Para calcular el RNP ajustado se le ha asignado un valor estandarizado de RPN de 4.1 a la proteína de referencia.

$$RNP_a = RNP_{PRUEBA} \frac{RNP(Caseína)_{STD}}{RNP(Caseína)_{EXP}}$$

RNP (PRUEBA) = RNP experimental de la proteína a evaluar

RNP (CASEÍNA)_{STD} = RNP de caseína estandarizado de 4.1

RNP (CASEÍNA)_{EXP} = RNP de caseína experimental

Digestibilidad aparente

Procedimiento

Para realizar la digestibilidad aparente se emplean los animales de experimentación usados en los ensayos biológicos: Relación de la Eficiencia de la Proteína (REP) y Relación Neta de la Proteína (RNP). Colectar las heces de las ratas a partir del vigésimo cuarto día de experimentación hasta su término, para ello se coloca una charola de papel manila debajo de cada jaula. Al término del estudio se obtiene el peso de las heces y posteriormente se homogeneiza con mortero. Finalmente, se determina el contenido de nitrógeno a partir del método Kjeldahl (N° 960.52).

Cálculos:

$$N_{Ingerido} = \frac{(\%N_{DIETA} \times g \text{ Dieta ingerida})}{100}$$

$$N_{Fecal} = \frac{(\%N_{HECES} \times g \text{ Heces Totales})}{100}$$

Para calcular la digestibilidad *in vivo* se hace uso de la siguiente fórmula:

$$\%D_a = \left(\frac{N \text{ ingerido} - N \text{ fecal}}{N \text{ ingerido}} \right) \times 100$$

Balance de hierro

Para realizar el balance de hierro se utilizar la metodología descrita en la página 59.

$$BFe = CFe_A - CFeh$$

Donde:

BFe = Balance de hierro

CFe_A = Contenido de hierro en el alimento o en la dieta

CFeh = Contenido de hierro en heces

$$\% \text{ Balance Fe} = \frac{CFe_A - CFeh}{CFe_A} \times 100$$

11. Anexo II (Análisis estadístico de los resultados de REPa y RNPa).

Relación de la Eficiencia de la Proteína (REP)

ANOVA de una vía

Fuente	SC ^a	GI ^b	CM ^c	F	F tablas ^d
Tratamiento	2.62	3	0.87	7.91	4.53
Ej(i)	2.19	20	0.11		
Total	4.81	23	0.21		

^aSC= Suma de Cuadrados, ^bGL= grados de libertad,

^cCM= Cuadrado Medio

^dF tablas ($\alpha=0.05$, 4 tratamientos, 6n)

Prueba de Tukey

$$Y_i - Y_j = \pm(4, 24, \alpha = 0.05) = 3.96 \frac{\sqrt{0.11}}{6} = \mathbf{0.54}$$

$$\text{Cas} - \text{CasFe} = 2.5 - 2.39 = 0.11$$

$$\text{Cas} - \text{Chía} = 2.5 - 1.71 = \mathbf{0.79^*}$$

$$\text{Cas} - \text{ChíaFe} = 2.5 - 1.98 = 0.52$$

$$\text{CasFe} - \text{Chía} = 2.39 - 1.71 = \mathbf{0.68^*}$$

$$\text{CasFe} - \text{ChíaFe} = 2.39 - 1.98 = 0.41$$

$$\text{Chía} - \text{ChíaFe} = 1.78 - 1.98 = -0.27$$

$$\text{Cas} - \text{CasFe} \quad 0.11 < 0.54$$

$$\text{Cas} - \text{Chía} \quad \mathbf{0.79 > 0.54^*}$$

$$\text{Cas} - \text{ChíaFe} \quad 0.52 < 0.54$$

$$\text{CasFe} - \text{Chía} \quad \mathbf{0.68 > 0.54^*}$$

$$\text{CasFe} - \text{ChíaFe} \quad 0.41 < 0.54$$

$$\text{Chía} - \text{ChíaFe} = -0.27 < 0.54$$

*Sí existe diferencia significativa entre las dietas.

Relación Neta de la Proteína (NPR)

ANOVA de una vía

Fuente	SC ^a	GL ^b	CM ^c	F	F tablas ^d
Tratamiento	13.6	3	4.53	78.10	4.53
Ej(i)	1.16	20	0.058		
Total	14.76	23	0.64		

^aSC= Suma de Cuadrados, ^bGL= grados de libertad,

^cCM= Cuadrado Medio

^dF tablas ($\alpha=0.05$, 4 tratamientos, 6n)

Prueba de Tukey

$$Y_i - Y_j = \pm(4, 24, \alpha = 0.05) = 3.96 \frac{\sqrt{0.058}}{6} = \mathbf{0.39}$$

$$\text{Cas} - \text{CasFe} = 4.10 - 4.14 = -0.04$$

$$\text{Cas} - \text{Chía} = 4.10 - 2.52 = \mathbf{1.58^*}$$

$$\text{Cas} - \text{ChíaFe} = 4.10 - 2.75 = \mathbf{1.35^*}$$

$$\text{CasFe} - \text{Chía} = 4.14 - 2.52 = \mathbf{1.62^*}$$

$$\text{CasFe} - \text{ChíaFe} = 4.14 - 2.75 = \mathbf{1.39^*}$$

$$\text{Chía} - \text{ChíaFe} = 2.52 - 2.75 = -0.23$$

$$\text{Cas} - \text{CasFe} = -0.04 < 0.39$$

$$\text{Cas} - \text{Chía} = \mathbf{1.58 > 0.39^*}$$

$$\text{Cas} - \text{ChíaFe} = \mathbf{1.35 > 0.39^*}$$

$$\text{CasFe} - \text{Chía} = \mathbf{1.62 > 0.39^*}$$

CasFe – ChíaFe **1.39 > 0.39**

Chía – ChíaFe – 0.23 < 0.

*Sí existe diferencia significativa entre las dietas.

12. Anexo III (Registro de datos)

Registro de peso acumulado y alimento ingerido de las ratas durante los ensayos biológicos de la REP y RNP.

Lote 1 Dieta a base de chíá

Rata: Ch1	Sexo: M			Peso Inicial(Pi): 31.9				Dieta: Chíá					
Tiempo (días)	0	2	5	7	9	12	14	16	19	21	23	26	28
Peso animal (Pdía)	31.9	32.8	36.0	39.2	42.6	42.7	42.9	46.2	50.9	57.1	62.6	69.1	72.5
Incremento acumulado (Pdía-Pi)	0	0.9	4.1	7.3	10.7	10.8	11.0	14.3	19.0	25.2	30.7	37.2	40.6
Alimento inicial (I)	251.0	264.3	262.4	263.5	274.4	284.0	284.2	287.1	283.5	277.9	277.3	278.2	277.1
Alimento Final (F)	244.7	246.4	247.6	249.1	254.2	270.5	270.3	265.5	265.7	258.5	247.9	259.1	257.2
Alimento ingerido (Al=I-F)	6.3	17.9	14.8	14.4	20.2	13.5	13.9	21.6	17.8	19.4	29.4	19.1	19.9
Alimento acumulado (Σ Al)día	6.3	24.2	39.0	53.4	73.6	87.1	101.0	122.6	140.4	159.8	189.2	208.3	228.2

Registro de valores promedio del incremento de peso por día, utilizados para construir la curva de crecimiento de los ensayos biológicos.

Días	0	2	5	7	9	12	14	16	19	21	23	26	28
Chía	0.0	2.8	9.2	12.5	17.2	20.9	22.2	24.6	30.0	35.3	38.3	46.3	50.5
Chía+Fe	0.0	3.1	11.6	15.0	21.5	29.3	35.2	40.9	46.4	51.1	58.9	63.1	65.7
Caseína	0.0	3.7	10.4	23.7	27.9	33.5	36.8	47.4	54.9	61.0	71.9	79.1	91.2
Caseína+Fe	0.0	3.3	10.7	22.6	25.9	31.0	39.4	43.4	48.5	57.3	63.7	70.7	76.7