

**CALIDAD NUTRICIONAL DE LAS PROTEÍNAS PRESENTES EN LAS
CULTIVARIEDADES DE FRÍJOL 2518 Y 2519 OBTENIDOS
MEDIANTE EL HETEROINJERTO BERNAL**

EDUARDO MALAGÓN-PUENTES

TRABAJO DE GRADO

Presentado como requisito parcial para optar el título de

BIÓLOGO

PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA

FACULTAD DE CIENCIAS

CARRERA DE BIOLOGÍA

Bogotá D.C. Agosto 17 de 2001

NOTA DE ADVERTENCIA

Artículo 23 de la Resolución N° 13 de julio de 1946: “La Universidad no se hace responsable por los conceptos emitidos por sus alumnos en sus tesis de grado”.

CALIDAD NUTRICIONAL DE LAS PROTEÍNAS PRESENTES EN LAS
CULTIVARIEDADES DE FRÍJOL 2518 Y 2519 OBTENIDOS
MEDIANTE EL HETEROINJERTO BERNAL.

EDUARDO MALAGÓN-PUENTES

APROBADO

Leonardo Lareo. MSc, Director

Gerardo Moreno. MSc, Asesor

Olga cobos de Rangel. Jurado

José Salvador Montaña. Jurado

Luz Mercedes Santamaría. Directora Carrera Biología

Carlos Corredor PhD., Decano Académico

Este trabajo está dedicado a mis padres Stella Puentes y Manuel Malagón y a mi hermana Zulia Malagón por su paciencia, colaboración, incondicionalidad y voz de aliento.

AGRADECIMIENTOS

A Leonardo Lareo por la dirección de este tr

A Gerardo Moreno por su colaboración durante el tiempo que duró ésta investigación.

A Fabio Muñoz por su ayuda en el bioterio.

A Katherine Mejía, María Martínez, Juan Miguel Ruiz, Paula Cortes, Luisa Gelvez, Magda Gaviria y Alexander Colmenares, por su apoyo para continuar con éste trabajo en los momentos más difíciles.

A Johanna, marisol y Carolina y las demás personas que me ayudaron durante la realización del presente trabajo.

TABLA DE CONTENIDO

1. Introducción
2. Marco teórico
 - 2.1 Heteroinjerto Bernal
 - 2.2 Maíz
 - 2.2.1 Historia y distribución
 - 2.2.2 Morfología y Composición de la cariósida
 - 2.2.3 Importancia alimenticia
 - 2.2.4 Cultivariedad ICA V 557 OPACO (1900)
 - 2.2.5 Cultivariedad ICA V 507
 - 2.3 Fríjol
 - 2.3.1 Morfología de la semilla
 - 2.3.2 Historia y distribución
 - 2.3.3 Importancia alimenticia
 - 2.3.4 Cultivariedad ICA CERINZA (1900)
 - 2.4 Animales de ensayo
 - 2.4.1 Condiciones ambientales
 - 2.5 Proteínas
 - 2.5.1 Calidad proteica
3. Formulación de problema y justificación
 - 3.1 Formulación del problema
 - 3.2 Preguntas de investigación
 - 3.3 Justificación de la investigación.
4. Objetivos
 - 4.1 Objetivo general
 - 4.2 Objetivos específicos
5. Hipótesis
6. Materiales y métodos
 - 6.1 Ratas

- 6.1.1 Selección
- 6.1.2 Cruce
- 6.1.3 Manejo de crías
- 6.2 frijoles 2518 y 2519
- 6.3 Preparación de la dieta
 - 6.3.1 Selección del frijol
 - 6.3.2 Preparación del frijol
 - 6.3.3 Determinación de proteínas
 - 6.3.3.1 Preparación del buffer
 - 6.3.3.2 Cuantificación de proteínas
 - 6.3.4 Elaboración de la dieta
- 6.4 Determinación de PER
 - 6.4.1 Suministro de la dieta
 - 6.4.2 Control de peso semanal
- 6.5 Análisis de resultados
- 7. Resultados
 - 7.1 Determinación del porcentaje de proteínas
 - 7.2 Peso de ratas
 - 7.3 Alimento ingerido
 - 7.4 Eficiencia alimenticia
 - 7.5 PER
- 8. Discusión de resultados
 - 8.1 Determinación del porcentaje de proteínas
 - 8.5 Peso de las ratas, alimento consumido y PER
- 9. Conclusiones
- 10. Recomendaciones
- 11. Referencias
- 12. Anexos

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Concentración de proteína de 3 tipos de frijol cocinado.

Tabla 2. Porcentaje de proteína de 3 dietas.

Tabla 3. Peso total de alimento consumido en 3 dietas.

Tabla 4. PER promedio final de cada una de las dietas.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Camada de 6 días de nacida.

Figura 2. Ratas en jaulas individuales.

Figura 3. Dieta de frijol.

Figura 4. Peso de rata en balanza.

Figura 5. Promedio de incremento de peso semanal en ratas
Alimentadas con tres dietas

Figura 6. Alimento ingerido por ratas alimentadas con frijol durante
cuatro semanas.

Figura 7. Eficiencia alimenticia de tres frijoles durante cuatro
Semanas

ÍNDICE DE ANEXOS

Página

Anexo 1. Análisis de varianza de un factor, entre la totalidad de las muestras obtenidas en la lectura de concentración proteínas en tres dietas.

Anexo 2. Análisis de varianza de un factor del total de datos de alimento total consumido.

Anexo 3. Prueba T Comparando Cerinza contra 2518 y 21519 con los valores de la cantidad de alimento total consumido.

Anexo 4. Prueba T entre los valores final de PER comparando las dietas con frijol ICA CERINZA contra 2518 y 2519.

RESUMEN

Mediante el uso del Sistema Químico Biológico, desarrollado en 1961 por el Padre José Bernal Restrepo S.J., Biólogo Genetista, se mejoraron especies vegetales de diferentes categorías taxonómicas, logrando más de 200 variedades entre frutales, pastos y árboles maderables. Las plantas obtenidas presentan mayor productividad, adaptación a diversos climas y suelos y mayor porcentaje de proteínas.

En 1994 en la Pontificia Universidad Javeriana (P.U.J.) se desarrollaron varios heteroinjertos entre frijol ICA CERINZA y diferentes parentales de maíz; Los heteroinjertos se denominaron 2518 (ICA CERINZA x MAÍZ PORVA) y 2519 (ICA CERINZA x MAÍZ OPACO).

En el presente trabajo se evaluó en ratas Wistar recién destetadas la calidad proteica de muestras preparadas (cocinadas) de los frijoles experimentales 2518 y 2519 (16% y 17.6% de proteína, respectivamente) y el frijol comercial ICA CERINZA (17% de proteína), mediante la metodología PER (Índice de eficiencia Proteica), en donde se establece la relación entre el incremento de peso de las ratas, alimentadas con una dieta que tiene como fuente de proteína el frijol y la cantidad de alimento consumido.

El PER del frijol experimental 2518 presentó un valor similar al del frijol comercial ICA CERINZA, con un valor de 0.8 y 0.79 respectivamente, mientras que en el frijol 2519 se obtuvo un PER de 1.76, con diferencias estadísticamente significativas.

Se puede concluir que el frijol 2519 obtenido mediante la metodología del heteroinjerto Bernal, tiene mejor calidad nutricional debido a un posible mejoramiento en el perfil de aminoácidos, característica que lo hace más asimilable.

1. INTRODUCCIÓN

Desde la publicación de *Evaluation of Protein Quality* en 1963, ha sido creciente el interés por evaluar, no sólo el valor nutricional si no del contenido y calidad proteica que proveen los alimentos que son consumidos por la población, entre estos productos se encuentran los cereales (arroz, trigo, maíz, y sorgo) legumbres (fríjol común, soya, garbanzo y lenteja) y tubérculos (papa y casava), entre otros; Además creció el interés de garantizar valores mínimos en los alimentos procesados y dar estándares de calidad a los productos alimenticios comerciales (Altschul 1981).

La evaluación de la calidad proteica, definida como la capacidad de una proteína de satisfacer nitrógeno y aminoácidos esenciales (Pellet & Young 1980), se inicia con la determinación del contenido de Nitrógeno y mediante ensayos de valor nutricional y de digestibilidad, por medio de ensayos *in vitro* y ensayos *in vivo*. Entre éstos últimos se destacan los procedimientos PER (Protein Efficiency Rate), NPU (Net Protein Utilization) y VB (Valor Biológico), (Pellet &Young 1980).

En la prueba PER, (Tasa de Eficiencia Proteica) se suministran dietas estandarizadas a un 9.9% de proteína a animales (perros, cerdos o ratas) o humanos. La fuente de proteína es el alimento que se desea evaluar.

Realizar ensayos en animales de manera rigurosa, tiene la ventaja que dan resultados similares a los obtenidos en ensayos en humanos, encontrando correlaciones altas (Bressani 1975). Todos los métodos usados para la evaluación de calidad de proteína en experimentos con animales miden el cambio de la proteína corporal asociado con la ingestión de proteína específica. En animales adultos el cambio en proteína corporal es usualmente estimado por cambios en el nitrógeno corporal. Para obtener resultados válidos se ha establecido un número

mínimo de ocho ratas, preferiblemente machos de raza Wistar, debido a que presentan un mayor crecimiento durante la época en que se realiza en ensayo, 21-49 días después del destete (Pellet & Young 1980).

En el boletín Nutritional and Your Health: Dietary Guidelines for Americans, edición del año 2000 (U.S. Department of agriculture 2000) se recalca la importancia alimenticia de los granos, debido a que brindan carbohidratos complejos, son una gran fuente de proteínas y de energía, se recomienda su consumo diario para obtener sus beneficios, al igual que su consumo de manera complementaria, leguminosas con cereales (Messina 1999), para obtener una calidad proteica superior a la calidad obtenida a si son consumidos de manera independiente, ya que ambos carecen de aminoácidos indispensables, metionina y lisina respectivamente.

Con base en estas recomendaciones, es necesario no sólo brindar la información básica para que población consuma de manera adecuada los alimentos que den un buen balance nutricional, sino implementar las metodologías necesarias para mejorar los estándares de calidad que se tienen actualmente, sin que esto vaya en detrimento de la población humana o del medio ambiente, es por lo tanto un reto implementar nuevas tecnologías que sean económicas y que brinden soluciones efectivas a las necesidades nutricionales de la población.

Tomando como base las recomendaciones enunciadas en el Boletín Nutricional antes mencionado, se hace evidente el requerimiento de estudios adicionales, siguiendo los parámetros para evaluación de la calidad de la proteína, que brinden nuevos datos sobre los aportes nutricionales, principalmente de leguminosas y cereales, para suplir la deficiencia nutricional en la dieta.

Teniendo en cuenta las deficiencias de aminoácidos que presentan las leguminosas y los cereales y su importancia en la población, se realizó un heteroinjerto entre frijol (*Phaseolus vulgaris*) y maíz (*Zea mays*), mediante la metodología del heteroinjerto Bernal, logrando las variedades de frijoles experimentales 2518 y 2519, en las que se han obtenido plantas que presentan mayor productividad, resistencia a plagas, mejor adaptación a una gama más amplia de condiciones ambientales y granos con un mayor porcentaje de proteína.

Los resultados son promisorios para la variedad 2519, en donde se logra un índice PER superior si se compara con lo obtenidos en las variedades 2518 e ICA CERINZA, lo que significa que se logra un balance entre el aumento de la cantidad proteica y su calidad . Queda por establecer en posteriores estudios, las razones por las que se presentan estos resultados, siendo éstas hasta el momento explicadas de manera predictivas.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Heteroinjerto Bernal

Desde 1966 el R. P. José Bernal Restrepo, S.J. Biólogo Genetista, inició la publicación de algunos artículos en donde menciona el descubrimiento de una nueva metodología para producir nuevas variedades de plantas (Moreno 1993) a partir de especies de diferente categoría taxonómica y en donde se observa que estas variedades superan a sus padres en valor alimenticio, son más fecundas, vigorosas, productivas y tienen una capacidad de adaptación mayor a diversos climas y suelos y gran resistencia a plagas y enfermedades (Bernal 1978).

A partir de 1975 esta metodología se denominó Sistema Químico Biológico (SQB) (Moreno, 1993) y desde su inicio en 1961 hasta 1978 se obtuvieron más de 200 variedades entre los que se encuentran los frutos aguamango (aguacate x mango), tomabrevó, tochuva; los pastos gramalante, gramafante, maravilla y los árboles maderables eucapino, pineuca, balsorosa (Bernal 1979).

Uno de los injertos de mayor importancia científica y económica es el de leguminosas con gramíneas (fríjol x maíz) en donde se ha obtenido un producto con mayor producción, incremento en el porcentaje de proteína, mayor adaptación al medio ambiente y estabilidad genética.

Además se busca aumentar el porcentaje y calidad de las proteínas de las gramíneas; eliminar el problema que en las leguminosas los aminoácidos que contienen azufre sean limitantes, es decir, los aminoácidos esenciales que se encuentran en menor cantidad y de los cuales va a depender la cantidad de proteínas que se pueda sintetizar; disminuir los factores de flatulencia, que limitan en ciertos casos el consumo de los frijoles debido a la formación de gas por bacterias Gram positivas que se hallan en el tracto intestinal; aumentar la digestibilidad proteica ya que en

algunas personas puede causar problemas estomacales, mientras que el maíz no presenta estos problemas.

La proteína de las leguminosas es deficiente en metionina pero es rica en lisina mientras que los cereales carecen de ésta y de la treonina, por lo tanto la combinación de leguminosas y cereales reducen las deficiencias respectivas de sus aminoácidos limitantes (Contreras et al. 1981; Moreno 1993).

En 1994 la Pontificia Universidad Javeriana, actual propietaria de ésta metodología, propuso cambiar el nombre S.Q.B. por el de HETEROINJERTO BERNAL, nombre con el que se conoce actualmente.

2.2 Maíz

Es una planta monocotiledónea con $2n=20$ cromosomas. El nombre científico es *Zea mays*, pertenece a la Tribu Maydeae, Familia Gramíneae, Orden Glumiflorales, Clase Monocotiledónea (Moreno 1993).

La reproducción del maíz es por polinización cruzada, la flor femenina (elote, mazorca o espiga) y la masculina (espiguilla) se hallan en diferentes lugares de la planta. Las panojas a menudo, una por tallo, son las estructuras donde se desarrolla el grano en un número variable de 300 a 1000 dependiendo de la cultivariedad (FAO 1993).

2.2.1 Historia y Distribución

El cultivo del maíz tuvo su origen en América Central, en México, desde donde se difundió hacia el Norte hasta Canadá y hacia el Sur hasta Argentina. La evidencia más antigua de la existencia del maíz ha sido encontrada en el valle de Tehuacan (México) pero es posible que hubiese tenido otros centros secundarios de origen en América.

Este cereal jugó un papel muy importante en la civilización Maya y

Azteca en las creencias religiosas, festividades y nutrición, A finales del siglo XV, tras el descubrimiento del continente Americano, el grano fue introducido a Europa a través de España, se difundió entonces por los lugares de clima más cálido del Mediterráneo y posteriormente a Europa Septentrional.

Se cultiva en toda Colombia desde los 14°C en el Altiplano Cundiboyacense hasta los 35°C en zonas de la Costa Atlántica.

2.2.2 Morfología y Composición de la Cariópside

Los granos de maíz o cariósides se desarrollan mediante la acumulación de los productos de la fotosíntesis, la absorción a través de las raíces y el metabolismo de la planta en la inflorescencia femenina. Cada cariópside contiene cuatro estructuras físicas fundamentales, el pericarpio, cáscara o salvado, endospermo y germen o embrión (FAO 1993).

El componente principal del grano es el almidón en forma de amilosa y amilopectina, también se encuentran otros hidratos de carbono sencillos en forma de sacarosa y fructosa en pequeñas cantidades. Después del almidón las proteínas constituyen el siguiente componente por orden de importancia. Las proteínas del embrión proporcionan una cantidad relativamente altas de determinados aminoácidos aunque no suficientes para elevar la cantidad de proteínas de todo el grano, el embrión proporciona pequeñas cantidades de lisina y triptófano, los dos aminoácidos limitantes de las proteínas del maíz. Las proteínas del endospermo tienen un bajo contenido de lisina y triptófano al igual que las proteínas del grano (FAO 1993).

El aceite de maíz tiene un bajo nivel de ácidos grasos saturados, ácido palmítico y esteárico a diferencia de relativamente altos niveles de ácidos grasos poliinsaturados, principalmente ácido linoléico. Se han encontrado pequeñas cantidades de ácido linolénico y araquidónico.

La fibra dietética sigue en cantidad a los anteriores componentes, principalmente en el pericarpio y la pilorriza, aunque también en las paredes celulares del endospermo y en menor cantidad en las del embrión. El mayor porcentaje se encuentra en forma de fibra insoluble en su mayor parte formada por hemicelulosa y en menor cantidad por celulosa y muy poca presencia de lignina (FAO 1993).

2.2.3 Importancia alimenticia

Junto con el trigo y el arroz es uno de los cereales más importantes en el mundo ya que con el se produce almidón, aceite, bebidas alcohólicas, edulcorantes y alimento para aves de corral y otros animales (FAO 1990).

En la nutrición de millones de personas es muy importante principalmente en países del tercer mundo, donde su consumo es alto ya que es una fuente económica e importante de energía, 317-361 Cal./100 Gr, (ICBF 1982) y brinda cantidades importantes de proteínas, entre 7.5%-10.1%, dependiendo la variedad (ICBF 1982). Los aminoácidos limitantes son la lisina, 2.2 Gr/ 100 Gr proteína, y la treonina, 3.2 Gr/ 100 Gr proteína (CIMMYT-PURDUE 1980) condición por la que su calidad proteica es baja y se hace necesario complementarlo con legumbres en la dieta (FAO 1990).

2.2.4 Cultivariedad ICA V 557 OPACO (1900)

Selecciones masales de Blanco Rubí (Sabanero fino), a las cuales por retrocruzamiento se le incorporó el gen OPACO-2, se cruzaron con la cultivariedad ICA H 225, obteniendo la cultivariedad ICA V 557 OPACO (1900) en 1980 en el Centro Nacional de Investigación Agropecuaria Tibaitatá del ICA (Serna & Patalagua 1997).

Es una planta de estatura mediana de aproximadamente 2.50 metros.

Florece a los 130 días después de sembrada y se obtienen choclos después de 45 días de floración. Es prolífica, produce más mazorcas por planta que los maizales comunes y cada 100 plantas producen en promedio de 170 a 190 mazorcas; su periodo vegetativo es de nueve meses (Serna & Patalagua 1997).

2.2.5 Cultivariedad ICA V 507

Se obtuvo de la tercera variedad mejorada que Proviene de la cosecha de 1972-1973 a la de 1975-1976 del cultivo de Morocho amarillo, luego de cuatro ciclos o generaciones de selección masal por prolificidad y rendimiento. El tercer ciclo se registró comercialmente como ICA V 507. El cultivo se realizó, por la seccional del programa de maíz y sorgo del ICA, en Obonuco y se creó para el Departamento de Nariño (Torregrosa & Eraso 1977)

Esta variedad se adapta a las zonas agrícolas de los climas fríos comprendidos entre los 1400 y 2900 m.n.s.m.

2.3 Fríjol

El fríjol (*Phaseolus vulgaris*) pertenece a la Tribu Phaseoleae, Familia Leguminosae, Orden Fabales, Clase Dicotiledonea.

El género *Phaseolus* posee 35 especies de las cuales sólo cuatro se cultivan.

Pertenece a los alimentos denominados legumbres, que son vegetales cuyos frutos y semillas se utilizan y están dispuestos en hileras dentro de las vainas celulósicas huecas (Pupi 1985). En las raíces laterales del fríjol hay nódulos distribuidos en la parte superior y media del sistema radical, estos nódulos tienen una forma poliédrica que son colonizadas por bacterias del género *Rhizobium* sp, las cuales fijan el nitrógeno atmosférico y contribuyen a satisfacer los requerimientos de este

elemento en la planta. Las bacterias entran por los extremos de los pelos absorbentes que se producen en gran abundancia y llegan hasta el periciclo, donde se forma una colonia que se agranda hasta constituir el nódulo (Serna & Patalagua 1997).

2.3.1 Morfología de la semilla

El frijol es aplanado, curvo o recto, con ápice encorvado o recto. El color depende de la variedad y varía entre verde uniforme o morado a casi negro. Al secarse la vaina, la capa de fibras produce su dehiscencia y dá la torción características de las vainas secas (FAO 1990, citado por Moreno 2000). La semilla en el frijol común tiene formas muy diferentes, desde esféricas hasta cilíndrica. La semilla propiamente dicha está constituida principalmente por dos cotiledones epigeos formados por parénquima de alto contenido de almidón y proteínas (Golecki 1998, citado por Moreno 2000).

2.3.2 Historia y Distribución

Estudios demuestran que el frijol proviene de Guatemala de donde se extendió hacia el norte a México, en donde fue cultivado hace unos 7000 años, la Florida y Louisiana; hacia el sur a Perú, las Antillas y Costas del Mar Caribe. Como los frijoles son un alimento de fácil almacenaje los primeros conquistadores del continente americano reabastecieron las bodegas de sus barcos y así llegaron a lugares tan remotos como la Indochina, Filipinas y África. A Europa llegó por España y se extendió luego a Italia y Francia donde salvó a sus pobladores de una temible hambruna en 1576 (Ijjasz 1999).

En Colombia se encuentra en las regiones altas descendiendo hasta el sur del país en los departamentos de Antioquia, Caldas, Boyacá, Cundinamarca, Huila, Santander, Cauca y Nariño.

2.3.3 Importancia Alimenticia

El frijol es una importante fuente de proteína, 23% en promedio, (Hulse 1980) con un alto contenido de lisina, 464 mg/ g N, (Hulse 1981) un factor nutricional significativo cuando se consideran a los frijoles un suplemento de los cereales, pero muestran una baja concentración de aminoácidos azufrados (125 mg/ g N, de metionina y cistina), por lo que el PER (Índice de Eficiencia Proteica) aumenta considerablemente en dietas a las que se les adiciona metionina (Protein Advisory Group of United Nations System 1972).

Aunque el frijol contiene ciertas sustancias tóxicas (factores antinutricionales) clasificadas como inhibidores de tripsina, (39 U/g), inhibidores de quimiotripsina (22 U/g), hemaglutinantes (2450 HU, Unidades Hemolíticas), causan aglutinación de los glóbulos rojos de la sangre y a veces de leucocitos; factores goiterogénicos, son compuestos que aumentan los requerimientos de yodo en los animales mediante diferentes mecanismos, lo que produce hipertiroidismo; glucósidos cianogénicos, derivados de los azúcares y al hidrolizarse liberan ácido cianhídrico (HCN); factores latéricos y compuestos que causan favismo, enfermedad caracterizada por anemia hemolítica. Éstas sustancias pueden ser destruidas mediante una adecuada cocción (Protein Advisory Group of the United Nations System 1972).

Los inhibidores de tripsina y quimiotripsina presentan la ventaja que son proteínas que contienen un mayor porcentaje de aminoácidos azufrados que el resto de proteínas del frijol, por lo tanto al destruirse su actividad mediante sometimiento al calor aumentan la calidad proteica (Hulse 1980). La calidad de las proteínas de los frijoles puede ser afectada por otros factores como el procedimiento para el consumo y almacenaje (Hulse 1980)

2.3.4 Cultivariedad ICA CERINZA (1900)

La cultivariedad ICA CERINZA (1900) se obtuvo a partir de un cruce entre los frijoles Antioquia 10 (ALGARROBO) X (L3043) y Antioquia 8 URIBE REDONDO X Antioquia 26 SANCHEZ, realizado por la sección de leguminosas de grano del Instituto Colombiano Agropecuario, ICA. Ésta cultivariedad se evaluó a partir de 1982 mediante pruebas regionales efectuadas en Cundinamarca, Boyacá y Nariño, durante 10 años hasta su liberación como variedad comercial en 1992 (Serna & Patalagua 1997; Moreno 1993).

Es un árbol arbustivo con un crecimiento determinado con ramificación compacta de follaje verde y flores blancas. Produce en promedio 15 vainas por planta de 12,5 cm de larga y 1.4 de ancha con cuatro semillas por vaina en promedio. El grano es alargado ovoidal, de color rojizo oscuro, el peso de 100 semillas es de 43 gramos, posee excelente calidad culinaria; de la siembra a la florescencia transcurren de 65 a 75 días. La madurez fisiológica ocurre entre los 120 y 132 días y la cosecha entre 140 a 160 días (Serna & Patalagua 1997).

2.4 Animales de Experimentación

Las ratas se han empleado usualmente en los ensayos de laboratorio y tienen gran aceptación en prácticas para determinar la calidad de alimentos debido a que presentan grandes ventajas respecto a otros animales como cerdos y perros, usados también en este tipo de pruebas, entre estas ventajas se encuentran, el corto período de gestación, el rápido destete de las crías, relativamente ocupan poco espacio, es necesario menor cantidad de alimento en los ensayos, manipulación más fácil. Se han establecido las condiciones ambientales y necesidades nutricionales de las ratas en los laboratorios, con lo cual los experimentos realizados con estos animales se realizan bajo ciertos estándares (Pellet & Young 1980).

La clasificación taxonómica es la siguiente (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)

FAMILIA	MURIDAE
SUBFAMILIA	MURINAE
GÉNERO	<i>Rattus</i>
ESPECIE	<i>Rattus norvergicus</i>

Las ratas Wistar pueden alcanzar hasta 5 años de vida, con un promedio de 3 años. Su peso es de 250-400 gr en ratas adultas, 40-50 gr en juveniles y de 5-6 gr en ratas recién nacidas (<http://www.geocities.com/RainForest/4091/info.htm>)

Las crías nacen sin pelos y con los ojos y oídos cerrados. Dentro de los 7-10 siguientes días ya están cubiertos de pelo y han abierto sus oídos y sus ojos. El periodo de lactancia dura aproximadamente 21 días, luego de terminar este periodo ya puede alimentarse como una rata adulta.

Morfológicamente las diferencia entre machos y hembras está dada por la distancia que existe entre el ano y la papila genital que es mucho más grande en machos que en hembras. En ambos sexos la pubertad ocurre cerca de los 50-60 días de edad. La vagina se abre a los 35 días aproximadamente y el primer estro ocurre a los 36 días, los cambios vaginales están muy relacionados con el ciclo estral. En los machos los testículos descienden durante un periodo de 15-51 días de edad (Baken et al 1983).

Las ratas hembras son usualmente cruzadas cuando tienen una edad entre 100-120 días aunque hay ratas que pueden ser apareadas a los 35 días obteniéndose crías con un peso corporal similar a ratas cruzadas a los 80 días.

El ciclo ovulatorio se inicia cerca de los 77 días, aunque puede iniciar entre los 45 a 147 días de edad. La menopausia se inicia durante los 450-

540 días de edad (Baken et al. 1983).

2.4.1 Condiciones ambientales

Se recomienda tener en el bioterio algunas condiciones ambientales para que no alcancen un estado de estrés sino que se mantenga en buen estado. Si alguna rata se encuentra en condiciones que no son las adecuadas libera feromonas, químicos secretados del cuerpo, que afectan la comunicación e influencia el comportamiento entre miembros de la misma especie, con lo que las otras ratas van a estar intranquilas, llegando a condiciones extremas de estrés lo que ocasiona alteraciones somáticas, pudiendo causar enfermedades o en extremos la muerte. Son fuente de feromonas en las ratas, químicos en la orina, heces y pelo (National Research Council 1985).

2.5 Proteínas

Las proteínas son macromoléculas que consisten en polímeros lineales o cadenas de aminoácidos (a.a.). Todos los organismos utilizan los mismos 20 a.a. como bloques para ensamblar las moléculas de proteína (Horton et al. 1993). Las proteínas de la dieta participan en la síntesis de las proteínas tisulares y en otras funciones tisulares especiales (Meyer & Clawson 1984). Los procesos anabólicos, proporcionan los aminoácidos necesarios para conservar y construir los tejidos corporales (Miller & Wise 1986; Mahan 1995).

Las proteínas tienen a su cargo una función estructural importante en la formación de enzimas, hormonas, y diversos líquidos y secreciones corporales en forma de lipoproteína, las proteínas participan en el transporte de triglicéridos, colesterol, fosfolípidos y vitaminas liposolubles, tienen un papel importante como receptores de membrana y en procesos de neurotransmisión (Mendez 1986). También contribuyen a la homeóstasis al conservar las relaciones osmóticas normales entre los

líquidos corporales (Krause 1995).

Las plantas sintetizan las proteínas a partir del nitrógeno que obtienen de los nitratos y el amoníaco del suelo o por medio de las relaciones simbióticas como en el caso de las legumbres. A su vez los animales obtienen el nitrógeno que requieren, de las proteínas de alimentos de origen vegetal o animal (Pupi 1985).

2.5.1 Calidad Proteica

La calidad proteica es un término que se refiere a la medida de la capacidad de una proteína de satisfacer las necesidades de nitrógeno y aminoácidos esenciales en una dieta al organismo que la consume (Pellet & Young 1980) o en términos absolutos es la cantidad mínima proteica requerida para satisfacer las demandas de nitrógeno, sin tener en cuenta el crecimiento (OMS 1990).

Los aminoácidos de la dieta deben ser liberados y absorbidos en una proporción adecuada para la síntesis de proteínas (Altschul 1981). La digestión y absorción incompleta puede tener efectos adversos en la utilización de proteínas, sólo por un balance incompleto de aminoácidos (Ashworth 1988).

Los aminoácidos liberados por la descomposición se reutilizan en la síntesis de proteínas (lossa et al. 1999). Sin embargo, como este proceso de reutilización no es del todo eficiente, ya que algunos aminoácidos se pierden en el catabolismo oxidativo, se requiere tanto de aminoácidos esenciales como del nitrógeno de origen dietético, por lo que la renovación diaria de proteínas orgánicas es en realidad varias veces mayor que la ingesta de aminoácidos, lo que demuestra que la reutilización de éstos contribuye de manera importante a la economía del metabolismo proteico (Waterlow 1978; OMS 1985).

La calidad proteica está condicionada por algunos factores entre los que se encuentran la composición de aminoácidos, digestibilidad, aporte de otros nutrientes como vitaminas, minerales, aporte calórico, espaciamiento en la ingesta de proteínas, acción de la temperatura, calor y tiempo de procesamiento y almacenamiento de los alimentos, y presencia de factores antinutricionales (Tagle 1980).

Cuando una dieta con un bajo nivel proteico puede soportar un crecimiento máximo o balance de nitrógeno se dice que la proteína tiene una alta calidad proteica (Du et al. 2000). El conocimiento acerca de los requerimientos es básico para la significancia nutricional de la calidad de la dieta proteica (Webel 1998; Darragh & Hodgkinson 2000).

Para establecer la calidad proteica de los alimentos son necesarios los ensayos biológicos ya que los análisis químicos no siempre revelan la presencia de antinutrientes (toxinas) o incluso de nutrientes que son biológicamente disponibles (Hulse et al. 1980; Pellet & Young 1980).

El propósito de las pruebas químicas es hacer una identificación de los aminoácidos presentes en una proteína mas no su biodisponibilidad (Hodgkinson 2000). Por ejemplo una fuente de proteínas con un buen complemento de aminoácidos podría no ser digerida o absorbida y en consecuencia tendría un bajo valor biológico (Anonymous 1998).

El procedimiento general para determinar la digestibilidad *in vitro* de una muestra consiste en determinar el pH al cabo de 10 minutos de someter una muestra de proteínas puras o harinas con alto contenido de proteína, a la acción de una enzima proteolítica. Con estos valores y los reportados en la literatura para digestibilidad *in vivo*, se elabora una curva de calibración y se calcula la respectiva ecuación de la curva para cada enzima. Con los valores obtenidos para cada muestra se calcula su

digestibilidad (Moreno 2000).

Entre los métodos biológicos de evaluación de la calidad proteica, se encuentra PER (Protein Efficiency Ratio), NPU (Net Protein Utilization); NPR (Net Protein Retention), modificación de PER con un grupo de animales con una dieta libre de proteína (Hulse et al. 1980).

La determinación de PER, método original de Osborne & Mendel 1919, determina los requerimientos de proteína para el crecimiento de los animales de experimentación, pero no para su mantenimiento (Hrupka et al. 1997). Si en una prueba PER no hay cambio en el peso corporal, el valor obtenido es cero y los requerimientos de proteínas para mantenimiento están siendo satisfechos. A diferencia de otros métodos que tienen en cuenta la proteína necesaria en mantenimiento, PER considera crecimiento solamente (Gahl et al. 1998).

$$\text{PER} = \frac{\text{Incremento de peso total en las ratas (g)}}{\text{Cantidad de alimento consumido (g) x Porcentaje de proteína en la dieta}}$$

Este método es uno de los más usados en la evaluación proteica en muchos países a pesar que presenta algunas fallas ya que algunas necesidades de aminoácidos son diferentes en ratas a las de humanos (Machado 1997).

El método NPR (Net Protein Retention), es una modificación de PER, en donde se introduce una dieta aprotéica para determinar la pérdida de N por degradación de proteínas por el metabolismo (Machado 1997).

$$\text{NPR} = \frac{\text{Incremento de peso grupo problema (g)} + \text{Pérdida de peso grupo aprotéico (g)}}{\text{Alimento consumido grupo problema (g)} \times \text{Porcentaje de proteína en la dieta}}$$

Otro método es NPU (Net Protein Utilization), consiste en medir el porcentaje de nitrógeno ingerido (I) que el organismo retiene (R):

$$\text{NPU} = \frac{R}{I} \times 100$$
, en donde R, es el nitrógeno corporal al final del ensayo en ratas alimentadas con la proteína de interés - el nitrógeno corporal final del grupo aprotéico (Tagle 1980).

El VB (Value Biologic) o Valor Biológico, es un método que cuantifica la fracción de nitrógeno absorbido (A) que el animal retiene (R), éste valor se expresa porcentualmente:

$$\text{VB} = \frac{R}{A} \times 100$$

El Valor Biológico debe determinarse a concentraciones bajas de proteína en la dieta, en la zona del equilibrio nitrogenado, de los balances negativos o levemente positivos. Si se grafica el balance nitrogenado o retención de nitrógeno obtenido en tales condiciones experimentales contra el nitrógeno absorbido, la relación es lineal y la inclinación de la recta que se ha denominado índice del equilibrio nitrogenado es el valor biológico (Tagle 1980).

La importancia de los métodos *in vivo* radica en que brindan una aproximación a lo que puede suceder en otros organismos, la biodisponibilidad de los aminoácidos, la calidad proteica y la posible presencia de factores antinutricionales, que deberán ser corroborados mediante una prueba química (Tagle 1980).

Tradicionalmente, los métodos y resultados de la determinación de la calidad proteica de los alimentos sólo han sido utilizados en los monogástricos, incluido el hombre, ya que los rumiantes la conversión de

proteína y demás compuestos nitrogenados en amoníaco , única digestión que consideraba importante en estas especies y que se da en el rumen, hacía inoperante tales evaluaciones. A pesar que ya se poseen métodos para su evaluación no son muy extendidos (Machado 1997).

3. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA E INVESTIGACIÓN

3.1 Formulación del problema.

Los frijoles obtenidos mediante el heteroinjerto Bernal, presentan algunas ventajas, entre que se encuentra la presencia de un mayor porcentaje de proteínas, aunque no se tenía conocimiento alguno sobre la calidad biológica de la misma y si presentaba diferencias con el frijol comercial ICA CERINZA.

3.2 Preguntas de investigación.

¿Tienen los frijoles 2518 y 2519 mayor calidad proteica que el frijol comercial ICA CERINZA?

3.3 Justificación de la investigación.

Mediante el uso de la metodología del heteroinjerto Bernal se han obtenido productos con mejores características agronómicas, entre las cuales se encuentran, mayor adaptación a diferentes rangos altitudinales, resistencia a plagas, mayor rendimiento, frutos con un tamaño superior.

Entre los heteroinjertos de mayor importancia se encuentran los frijoles 2518 (ICA CERINZA X MAÍZ PORVA) y 2519 (ICA CERINZA x MAÍZ OPACO), que además de presentar las anteriores ventajas agronómicas contiene una concentración de proteínas más elevada que el frijol padre (ICA CERINZA).

Teniendo en cuenta las anteriores características la Pontificia Universidad Javeriana consideró la importancia de evaluar la calidad proteica de los frijoles experimentales. Este estudio se realizó en ratas Wistar, mediante la metodología PER y se compararon los resultados con el frijol comercial ICA CERINZA.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Evaluar la calidad nutricional de las proteínas presentes en una progenie de las variedades de frijol experimental 2518, 2519 y la variedad comercial ICA CERINZA, mediante la metodología PER en ratas Wistar.

4.2 Objetivos específicos.

1. Determinar la concentración de proteína del frijol preparado.
2. Estandarizar la preparación de las diferentes dietas con base en frijol.
3. Determinar el porcentaje de proteína de las dietas.
4. Realizar las diferentes pruebas en ratas Wistar.
5. Aplicar pruebas estadísticas.

5. HIPÓTESIS

Ho = No existen diferencias significativas en la calidad proteica, entre los frijoles obtenidos mediante la metodología Bernal y el frijol comercial ICA CERINZA.

Ha = Existen diferencias significativas en la calidad proteica, entre los frijoles obtenidos mediante la metodología Bernal y el frijol comercial ICA CERINZA.

6. MATERIALES Y MÉTODOS.

6.1 Ratas

Se emplearon las ratas albinas Wistar, que pertenecen a la especie *Rattus norvegicus*, usualmente utilizadas en los experimentos con ratas.

6.1.1 Selección

Los parentales se escogieron según el registro de cada rata en donde se tiene en cuenta su edad, procedencia, tamaño y peso. Se escogieron ratas machos con edades superiores a los 80 días y que tuvieran un tamaño superior al promedio, y hembras con edades superiores a los 100 días, que hubieran presentado camadas numerosas y en buen estado de salud.

6.1.2 Cruce

Dependiendo del número de crías que se deseaban obtener, se cruzaron entre 2-4 ratas hembras con 1-3 machos adultos, teniendo en cuenta que cada hembra puede tener entre 4-9 crías. Se colocaron las ratas seleccionadas en una o dos jaulas plásticas y se alimentaron con comida comercial para perros.

Los machos se separaron al momento del nacimiento de las crías, porque el alimento que se suministró no contenía la cantidad adecuada de proteína, situación que provocó un comportamiento de “canibalismo” incitándolos a alimentarse de sus propias crías, sólo en una ocasión la hembra fue la agresora de dos de sus crías, para suplir su déficit proteico, siendo adecuado un 23% de proteína en la dieta (Comun. Personal), cantidad superior a la que contiene el concentrado para perros que se suministró.

Las ratas hembras que se emplearon en los cruces anteriores, al terminar su periodo de lactancia, se separaron en jaulas plásticas.

6.1.3 Manejo de crías

Al momento del nacimiento de las crías, luego de 30-45 días de realizado



el cruce, se separó el macho para evitar que éste las agrediera (Figura 1).

Figura 1. Camada de 8 días de nacidas

Se separaron las crías al momento del destete, aproximadamente a los 21 días de nacidas, en jaulas individuales (Figura 2), lo que permitía llevar un registro a cada rata de la comida consumida.



Figura 2. Ratas en jaulas individuales

6.2. Fríjoles 2518 y 2519

Las muestras experimentales provienen de cultivos realizados en Boyacá, con semillas provenientes de la cosecha de los fríjoles del segundo semestre de 1996, del experimento del C.N.I.A. Tibaitatá CORPOICA.

La clasificación taxonómica de las plantas parentales empleadas para los cruces es la siguiente,

	FRÍJOL	MAÍZ
CLASE	DICOTILEDONEA	MONOCOTILEDONEA
ORDEN	PHABALES	GLUMIFLORES
FAMILIA	LEGUMINOSAE	GRAMINEAE
GÉNERO	Phaseolus	Zea
ESPECIE	Phaseolus vulgaris	Zea mays
CULTIVARIEDAD	ICA CERINZA	MAÍZ PORVA Y OPACO
HETEROINJERTO	2518 (ICA CERINZA x ICA V 557, PORVA) 2519 (ICA CERINZA x ICA V 557, OPACO)	

De las cosechas se tomaron aproximadamente 2 kilos de cada una de las muestras, se empacaron, rotularon y almacenaron hasta el momento de su preparación.

6.3 Preparación de la dieta

En la preparación de las dietas se tuvo especial cuidado en el manejo de cada uno de los fríjoles para que conservaran en gran parte sus características nutricionales.

6.3.1 Selección del frijol

Se escogieron los granos de frijol que presentaron características físicas semejantes en cuanto a color, tamaño y ausencia de plagas y enfermedades.

6.3.2 Preparación del fríjol

Las semillas se pesaron y se lavaron para eliminar cualquier partícula extraña que estuviera presente. Se dejaron en hidratación en agua, aproximadamente 2000 gr de cada uno de los frijoles en una proporción de 2:1, éste proceso se realizó durante 12 horas. Al terminar el periodo de remojo el fríjol tuvo un aumento en peso en un factor de 2.

Posteriormente se realizó el proceso de cocción en olla a presión de 10 litros de capacidad, en 3500 ml de agua, durante una hora en estufa de gas.

Estos procesos se realizaron siguiendo el procedimiento general para la preparación casera del fríjol descrita por Hulse 1980.

Luego se escurrió y se extendió sobre una bandeja metálica y se secó en un horno de panadería a una temperatura inferior a los 40°C durante 3.5 horas aproximadamente, tiempo necesario para que el fríjol pierda humedad.

Se molió el fríjol seco en un molino eléctrico hasta que quedó en forma de harina.

Estos procedimientos sirven para destruir algunos factores antinutricionales y dar cambios predigestivos que aseguren una eficiente digestión. En términos generales éstos cambio pueden ser denominados como pregelatinización o hidrólisis de los carbohidratos.

La última parte de la metodología fue necesario estandarizarla para obtener un producto que se adecuara para la preparación de las dietas para las ratas, ya que no se encontraron reportes en donde mencionara de manera detallada la obtención de la harina del fríjol.

6.3.3 Determinación de proteínas

A la harina obtenida anteriormente se le realizó la cuantificación de proteínas siguiendo el protocolo para extracción de proteínas de frijol propuesto por Lareo 1993 así:

6.3.3.1 Preparación del Buffer

Se prepararon 250 ml de buffer de extracción (Tris HCl, 176 mM. pH 8.5) en solución salina (NaCl) al 1% y se mantuvo a 4°C . Se pesaron 50 mg +/- 2 mg de cada una de las muestras en un tubo Eppendorf previamente rotulado y se agregaron 500 µl de buffer de extracción.

Cada tubo se agitó por un minuto en el vortex, se dejó en nevera a 4°C en reposo por media hora. Cada media hora se volvió a agitar, durante tres horas, luego se dejó nuevamente en la nevera a 4°C. Al cabo de 12 y 24 horas se repitió el proceso. Luego se agitó nuevamente en el vortex por un minuto y se centrifugó 3 veces durante 5 minutos a 14.000 rpm, llevándolo a la nevera a 4°C durante 3 minutos entre cada proceso de centrifugación.

El sobrenadante se separó en un tubo Eppendorf de 1.5 ml, previamente rotulado y se llevó a congelación a -20°C.

6.3.3.2 Cuantificación

Se utilizó el método de lectura UV con límites de absorbancia entre 280 y 260 nm para cuantificar las proteínas (Stoscheck 1992) el cual permite leer para un rango de concentración de 20-300 nm. Se utilizó una celda de cuarzo para espectrofotómetro y 1 ml de buffer como blanco.

De cada extracto se tomaron 50 µl, se llevaron a 1 ml con el buffer de extracción y se llenó la celda de cuarzo y se anotaron las lecturas a 280 y 260 nm.

Aplicando la fórmula citada por Stoscheck 1992, se calculó la concentración de las proteínas presentes en las respectivas muestras, así:

$$\text{Concentración de la proteína (mg/ml)} = 1.55 A_{280} - 0.76 A_{260}.$$

$$\% \text{ Proteína} = \text{fd} \times \text{Concentración de proteínas}.$$

El valor de la dilución de la muestra es el resultado de dividir el peso de la respectiva muestra entre el volumen de la solución usada. En este caso es de 50 mg/ 750 ml, y por lo tanto el factor de dilución (fd) es de 15 (el inverso de la dilución).

6.3.4 Elaboración de la dieta

Luego de obtener los valores del porcentaje de proteína de las harinas de los frijoles 2518, 2519 e ICA CERINZA, se prepararon las dietas con las harinas de cada una de los frijoles, , obteniendo un $12\% \pm 0.4$ de proteína.

Cada una de las dietas debe tener las siguientes proporciones, Carbohidratos, 78%; proteína, 10%; grasa, 5%; fibra, 5%; vitaminas y minerales, 2%. El porcentaje de humedad no es considerado en la dieta, por lo tanto, de acuerdo a la fuente que se emplee de cada nutriente, el porcentaje de humedad varía. Tomando como fuente de los anteriores ingredientes se utilizó, harina de yuca, frijol (fuente principal de proteína), aceite vegetal, salvado de trigo y una mezcla comercial para bovinos, respectivamente.

El porcentaje de harina de frijol considerado diferente de proteína, se tuvo en cuenta en el momento de la preparación de la dieta como carbohidratos, no se consideró la cantidad de grasa, fibra, minerales y vitaminas que ésta contiene.

Los valores porcentuales de la dieta, mencionados anteriormente, han sido estandarizados por The National Research Council, entidad encargada de investigar sobre las condiciones nutricionales y ambientales en que deben mantenerse los animales domésticos y de laboratorio.

La mezcla de ingredientes con la que se obtuvo una dieta más homogénea en cuanto a distribución de proteína, fue la siguiente.

1. Se mezcla la harina con los minerales. Esta mezcla debe ser muy cuidadosa ya que la proporción de los minerales respecto a la harina es muy baja.
2. Aparte se incorpora el salvado al aceite, con lo que se reduce la formación de grumos en la harina.
3. $\frac{1}{4}$ de la mezcla de harina y minerales, se mezcla con el salvado y el aceite.
4. Se revuelven las $\frac{3}{4}$ partes de harina sobrantes con el frijón.
5. Finalmente se mezclan todos los ingredientes de la dieta.

A la mezcla obtenida se le realizó una cuantificación de proteínas, siguiendo el protocolo Lareo 1993, mencionado anteriormente, para corroborar que el porcentaje de proteína fuera el adecuado. No se realizaron otro tipo de análisis para determinar el porcentaje de los diferentes nutrientes, ni el porcentaje de humedad.

Una vez preparada cada una de las dietas se guardó en bolsas sellapack y se guardó en la nevera a 4°C hasta el momento de su utilización.

6.4 Determinación de PER

Para determinar el valor PER se debe llevar el control del incremento de peso y la cantidad de alimento consumido por cada una de las ocho ratas. La fórmula para su determinación es la siguiente,

PER = $\frac{\text{Incremento de peso total en las ratas (gr)}}{\text{Cantidad de alimento consumido (gr) x Porcentaje de proteína en la dieta}}$

6.4.1 Suministro de dieta

A cada una de las ocho ratas se les suministró la comida en recipientes plásticos individuales, de manera que cada una consumía la cantidad de alimento que le satisfacía sus necesidades. La frecuencia de suministro del alimento estaba determinada por su consumo diario, de manera que tuviera alimento durante todo el día (Figura 3). Se pesó la cantidad de comida que se suministró, durante el tiempo que duró cada prueba, en balanza electrónica.



Figura 3. Dieta de frijol

6.4.2 Control de peso semanal

Dos veces por semana se registró la cantidad de comida que sobró en cada una de las jaulas para evaluar la cantidad de alimento consumido. Igual número de veces se realizó un control de peso de cada rata en una balanza de tres brazos, sobre una tasa plástica cubierta para evitar su movimiento (Ver figura 4).

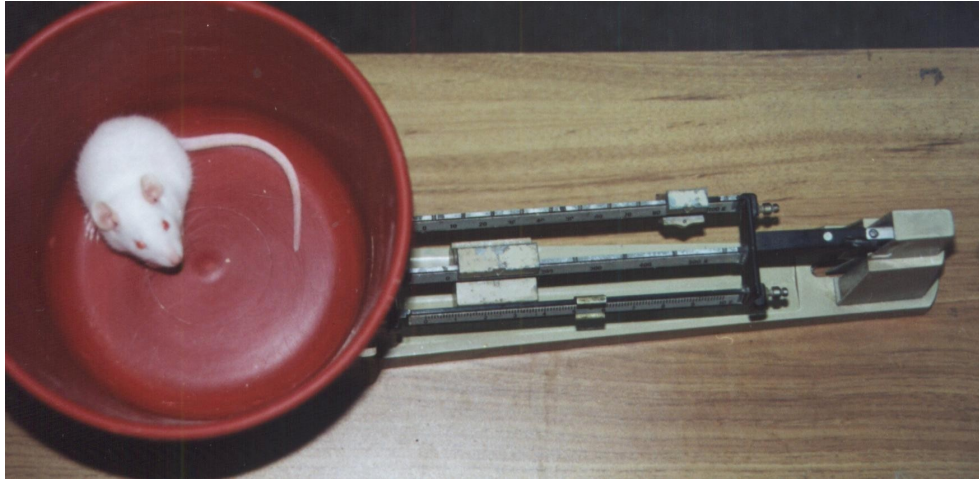


Figura 4. Peso de ratas en balanza

6.5 Análisis de resultados

Con los datos tomados se aplicó la fórmula PER y se realizaron las pruebas estadísticas análisis de varianza y Prueba T de student para observar si existían diferencias significativas entre los datos obtenidos. Posteriormente se efectuaron tablas, gráficas y se compararon los resultados con trabajos anteriores.

7. RESULTADOS

7.1 Determinación del porcentaje de proteínas.

Se determinó la concentración de proteína de cada una de las harinas de los frijoles, tabla 1, y el porcentaje de proteína de cada una de las dietas como se observa en la tabla 2. El valor que se muestra en las tablas es el promedio de tres lecturas \pm la desviación estándar.

Tabla 1. Concentración de proteína de 3 tipos de frijol cocinado.

Frijol	Concentración (%)
ICA CERINZA	$17.0 \pm 0,35$
2518	$16.0 \pm 0,25$
2519	$17.6 \pm 0,62$

Tabla 2. Porcentaje de proteína de 3 dietas con base en frijol

Frijol	Porcentaje
ICA CERINZA	$12.1 \pm 0,36$
2518	$12.2 \pm 0,36$
2519	$11.6 \pm 0,34$

7.2 Peso de ratas

En la figura 5 se observa el incremento total de peso de las ratas para cada una de las dietas. Se nota un aumento en el incremento de peso durante las cuatro semanas en la dieta con frijol 2519 a diferencia de las dietas con los frijoles 2518 e ICA CERINZA, donde el incremento de peso es menor a partir de la segunda semana.

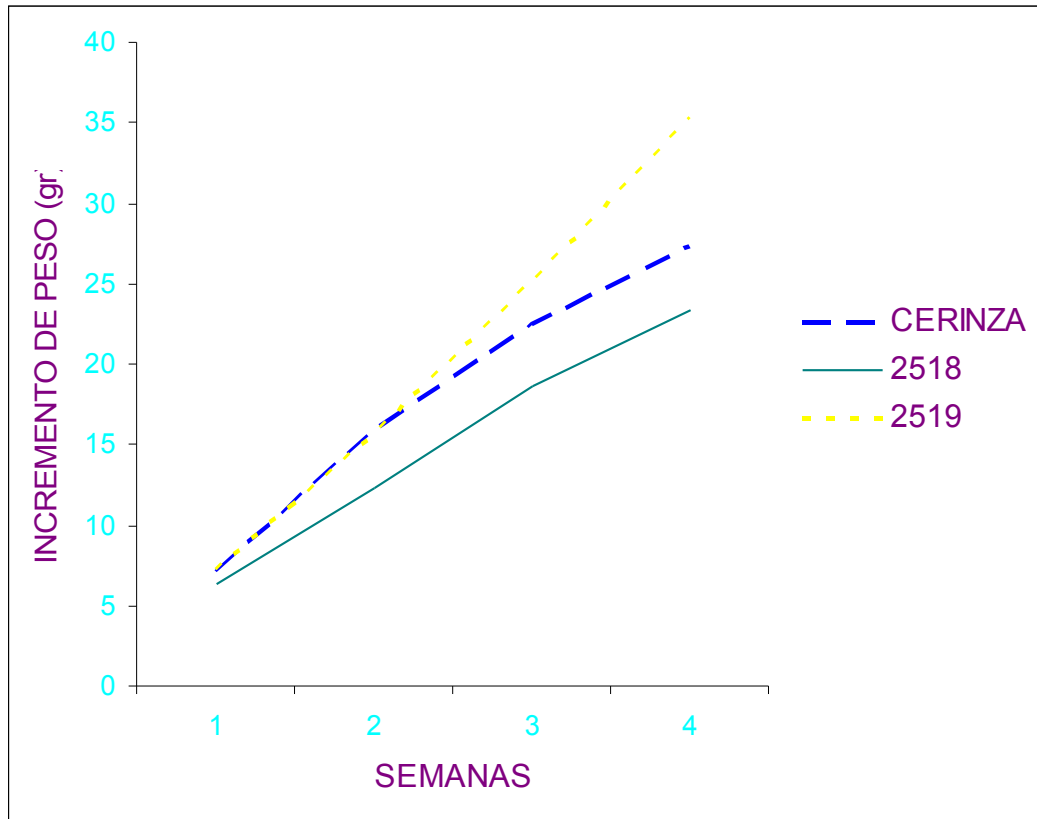


Figura 5. promedio de incremento de peso (gr) semanal en ratas alimentadas con tres dietas

7.3 Alimento ingerido

El promedio del alimento ingerido por las ocho ratas en cada dieta durante las cuatro semanas es mostrado en la figura 6 y el promedio del alimento total consumido en la tabla 3.

Se observa en ésta figura un mayor consumo de alimento en la dieta con frijol ICA CERINZA, seguida de la dieta con el frijol 2518 y en menor cantidad con el frijol 2519.

Se realizó un análisis de varianza entre los datos obtenidos de la cantidad de alimento ingerido por las ratas. Esta prueba mostró que existían diferencias significativas, ver anexo 2. Posteriormente se aplicó una prueba "t" para observar entre cuales dietas estaban dadas las

diferencias, como se observa en la tabla 3 y el anexo 3, las dietas que comparten la misma letra no tienen diferencias significativas y las dietas que tienen letras diferentes poseen diferencias significativas.

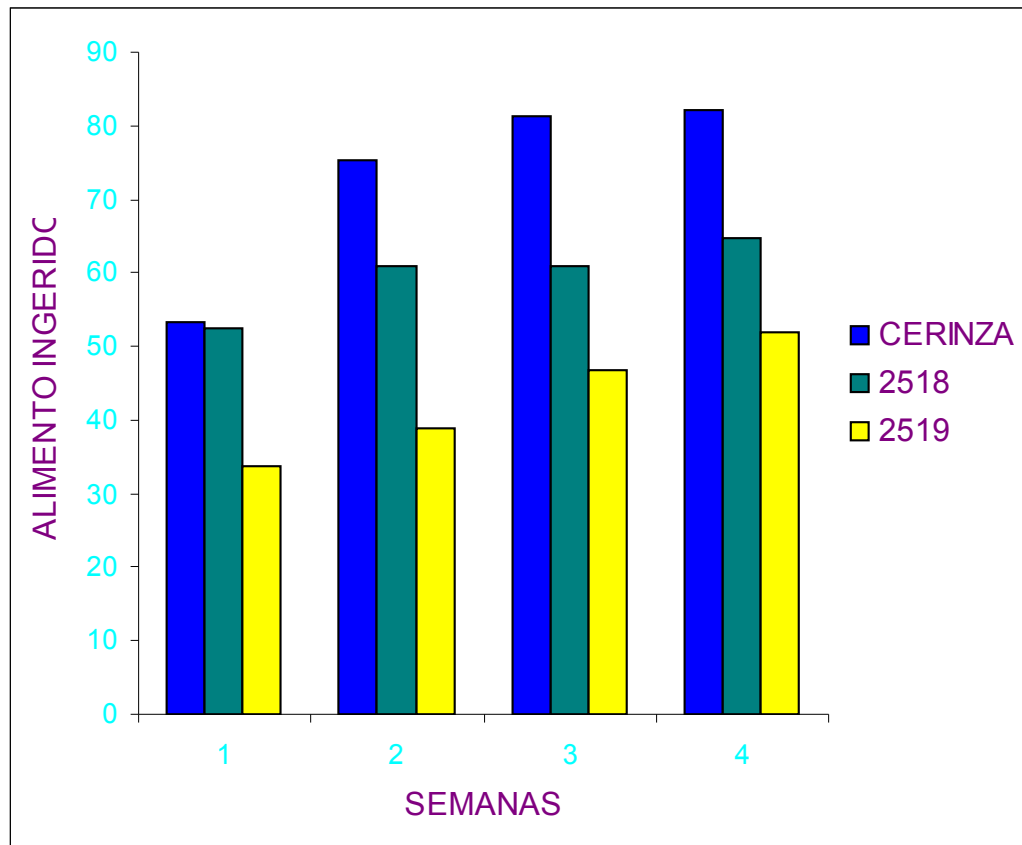


Figura 6. Alimento ingerido por ratas alimentadas con frijol durante cuatro semana

Tabla 3. Peso total de alimento consumido en 3 dietas durante cuatro semanas

FRIJOL	PESO (gr)
CERINZA	292 ± 26 a
2518	239 ± 27 a
2519	175 ± 30.5 b

7.4 Eficiencia alimenticia

La eficiencia alimenticia es la relación que hay entre el promedio del incremento de peso y el promedio del alimento consumido por las ratas de cada dieta (ver figura 7).

Los valores están mostrando una mayor eficiencia alimenticia en la dieta con frijol 2519 que en las dietas con los frijoles 2518 e ICA CERINZA que tienen valores similares.

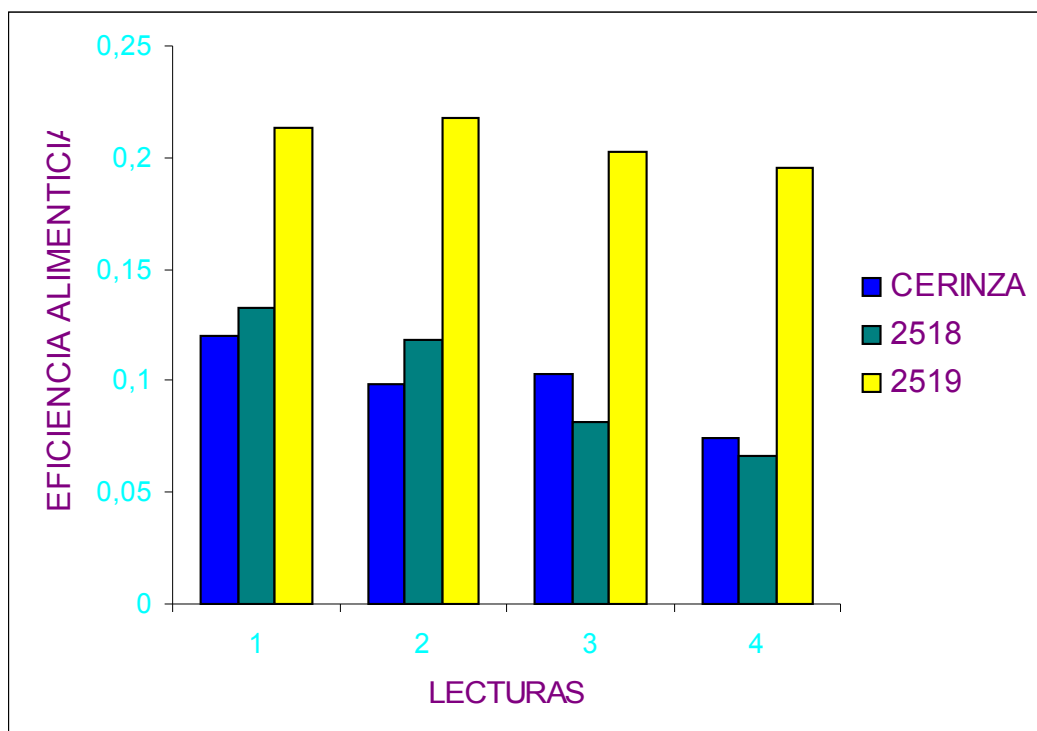


Figura 7. Eficiencia alimenticia de tres dietas durante cuatro semanas.

7.5 PER

En la tabla 4 se observa el valor PER promedio de las ocho ratas para cada una de las dietas. El valor PER en la dieta con frijol 2519 es muy superior a los valores obtenidos con las otras dietas.

El análisis de varianza mostró diferencias significativas entre las muestras. Posteriormente la prueba "t" mostró diferencias poco

significativas entre las dietas 2518 e ICA CERINZA a diferencia de las dietas 2519 e ICA CERINZA donde se observaron diferencias altamente significativas al igual que entre las dietas 2519 y 2518 (Ver tabla 4 y anexo 4).

Tabla 4. PER promedio final de cada una de las dietas

FRIJOL	PER
CERINZA	0,79 ± 0.13 a
2518	0,80 ± 0.22 a
2519	1,76 ± 0.2 b

Las expresiones de la fórmula PER para cada una de las dietas se consideró de la siguiente manera.

$$\text{PER}_{2518} = \frac{23}{239 \times 12.2\%}$$

$$\text{PER}_{2519} = \frac{35}{175.2 \times 11.6\%}$$

$$\text{PER}_{\text{CER.}} = \frac{28}{291.8 \times 12.1\%}$$

8. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

8.1 Determinación del porcentaje de proteínas

El valor de los porcentajes de proteínas fueron establecidos a partir de tres muestras de cada una de las harinas de frijol. Los tres valores resultantes se promediaron, valor con el cual se trabajó, y se establecieron sus desviaciones estándar.

Los valores del porcentaje de proteínas obtenidos en las dietas se encuentran entre 11.6% y 12.2%, valor cercano al esperado de 10%, ésta diferencia entre el valor esperado y los valores obtenidos se debe a que no se tuvo en cuenta la proteína presente en los componentes de la dieta diferentes al frijol, por lo que el valor porcentual aumentó, además esta diferencia puede estar dada por errores de muestreo en la medida de cada de las muestras y lectura en los diferentes aparatos de medición.

Al realizar un análisis de varianza entre la totalidad de las muestras obtenidas (9), no se obtuvo una diferencia significativa entre las lecturas.

8.2 Peso de las ratas, alimento consumido y PER

El incremento de peso total es mayor en las ratas alimentadas con la dieta 2519, seguida de la dieta ICA CERINZA Y finalmente la 2518.

A través de las cuatro semanas del trabajo, se observa que el consumo de alimento en la dieta ICA CERINZA es mayor a las otras dietas y el menor consumo se presenta en la dieta 2519. El consumo total de alimento mantiene por lo tanto el mismo comportamiento.

La menor cantidad de alimento consumido se puede explicar si se asume que el frijol 2519 es más asimilable, por lo tanto el requerimiento de aminoácidos se satisface con menor cantidad de proteína ingerida,

contrario a lo que se presenta con las otras dietas en donde debe haber un consumo mayor de las dietas para satisfacer estas necesidades.

En la gráfica de eficiencia alimenticia (Figura 7), se relaciona el alimento ingerido con el incremento de peso por cada lectura. Se observa una alta eficiencia del alimento con frijol 2519 sobre las otras dietas, ésta tendencia se mantiene en los resultados de los valores PER (tabla 2).

Las altas diferencias presentadas entre el frijol 2519 y los frijoles ICA CERINZA y 2518, son producto del mayor incremento del peso corporal y la menor cantidad de alimento ingerido en la dieta 2519 a diferencias de las otras dietas, en donde se observa un menor incremento de peso y un aumento significativo en el consumo de alimento.

El valor PER expresado anteriormente significa que por cada gramo de proteína ingerida las ratas alimentadas con el frijol ICA CERINZA aumentan 0.8 gramos, con 2518 aumentan 0.79 gramos y con 2519 el aumento es significativamente mayor con 1.73 gramos. Se observa por lo tanto una mayor eficiencia al consumir la dieta del frijol 2519, pues el aumento en peso corporal es mayor 2.16 veces por cada gramo de proteína ingerida en relación a las dieta con frijol 2518 e ICA CERINZA.

Los valores que se obtienen en las pruebas PER son comparados con el valor PER obtenido en una dieta con caseína, considerada una proteína de excelente calidad, que se ha establecido en 2.5 (Pellet & Young 1980), por lo tanto hay diferencias significativas entre éste valor y el obtenido en el frijol 2519, lo que muestra que su proteína tiene un desbalance de aminoácidos.

Estos resultados obtenidos por un método *in vivo*, contrastan con los resultados obtenidos por digestibilidad *in vitro* realizada por Moreno 2000, donde se realizó digestión con las enzimas pepsina, tripsina y una mezcla

de estas dos, en la cual se obtuvo un mayor porcentaje de digestibilidad, con valores cercanos al 87%. Al comparar los datos obtenidos de los frijoles 2519 e ICA CERINZA no se observan diferencias significativas.

Por lo tanto se muestra en este estudio, que no siempre los resultados obtenidos *in vitro*, muestran la biodisponibilidad de los nutrientes en el organismo.

La causa que permite la alta diferencia de los valores PER puede estar asociada con un cambio en el perfil de aminoácidos de las proteínas del frijol 2519, lo que mejora la calidad proteica debido a que hay un mejor aprovechamiento de los aminoácidos disponibles, en la síntesis de proteínas basales. Otra causa puede estar relacionada con una eliminación más eficiente de factores antinutricionales del frijol en el momento de su preparación, por ejemplo en el momento del remojo o de la misma cocción.

En estudios donde han aumentado el aminoácido limitante los valores de digestibilidad y de PER mejoran significativamente. Estudios realizados con base en una dieta de pan se obtuvo un PER de 0.8 y una dieta de pan enriquecida con lisina el valor aumentó a 2.2 y a un valor de 2.8 si la dieta se enriquecía adicionalmente con treonina (Hulse 1980).

De manera que si se aumenta en cantidad suficiente el porcentaje del aminoácido limitante en una proteína, se hace un balance con el siguiente a.a. limitante y si el segundo a.a. limitante es adicionado se realiza un balance con el tercer a.a. limitante. Esta adición permite una mayor digestibilidad de la proteína (Altschul 1981; Blemings 1998).

Al comparar el valor PER del frijol 2519 con 7 variedades de frijol (Porter 1986), a los que se les realizó la misma prueba, se obtuvo valores entre 0.96 y 2.32, con un PER promedio de 1.75, valor que no presenta diferencia significativa con el obtenido en el frijol 2519 de 1.76. Sin

embargo los valores PER de los frijoles 2518 e ICA CERINZA son inferiores a los registrados en estas 7 variedades.

Teniendo en cuenta los valores PER, se puede afirmar que el frijol 2519 presenta una mayor eficiencia proteica en comparación con los otros frijoles estudiados en este trabajo.

El análisis de varianza mostró diferencia significativa entre los datos (ver anexo 2) del alimento total consumido en las tres dietas, por lo que se realizó la prueba T para establecer las dietas en que se presentaban las diferencias (ver anexo 3).

El valor PER relaciona el incremento de peso con la proteína ingerida. Este valor es mayor en la dieta 2519 y casi igual entre las dietas ICA CERINZA y 2518 (Ver tabla 7). El análisis de varianza muestra que existen diferencias significativas entre los valores finales de PER obtenidos por cada rata en cada dieta. Posteriormente se realizó la prueba T (Ver tabla 8 y anexo 4).

9. CONCLUSIONES

1. El fríjol 2519 obtenido mediante el método del heteroinjerto Bernal posee una mejor calidad proteica que los frijoles 2518 e ICA CERINZA en éste trabajo.
2. El aumento de peso en las ratas, ante la misma ingesta de proteína es 2.16 veces mayor con el frijol 2519 que con los frijoles 2518 e ICA CERINZA.
3. Aparentemente el perfil de aminoácidos del fríjol 2519 se ha cambiado, mejorando su biodisponibilidad, dado que las ingestas fueron estandarizadas al mismo porcentaje de proteína en la dieta.
4. No se evidenciaron efectos visuales negativos en el comportamiento ni en la salud de las ratas Wistar a lo largo del tiempo que duró el experimento.

10. RECOMENDACIONES

1. Conocer y evaluar el contenido de aminoácidos de los frijoles 2518 y 2519.
2. Realizar estudios toxicológicos a largo plazo de estos materiales experimentales.
3. Evaluar los factores antifisiológicos presentes en estas cultivariedades.
4. Analizar el efecto de los restantes componentes de los frijoles 2518 y 2519.

11. REFERENCIAS

- Altschul, A. 1981. New Protein Foods. Vol 1 Part A. Primera edición. Academic Press. Washington D.C. 378 p.
- Anonymous. 1998. Protein. J. Nutr. 128 11S.
- Ashworth, A., 1988. Metabolic rates during recovery from protein-calorie malnutrition: The need for a new concept of specific dynamic action. Nature 223: 407-409.
- Baker, H., Russell, J. & Weisbroth, S. 1983. The laboratory rat. Vol 1. American College of Laboratory. USA. 302 p.
- Bernal, J. 1978. La Nueva Genética Vegetal. Revista Javeriana. 442: 51-56.
- Bernal, J. 1979. Nuevos Hechos y Teorías de la Genética Vegetal. Revista Javeriana. 451: 161-167.
- Blemings, K., Crenshaw, T. & Benevenga N. 1998. Mitochondrial lysine uptake limits hepatic lysine oxidation in rats fed diets containing 5, 20, or 60% casein. J. Nutr. 128: 2427-2434.
- Contreras, G., Elías, L. & Bressani, R. 1981. Efecto de la suplementación con Vitaminas y Minerales sobre la Utilización de la Proteína de Mezclas de Maíz: Fríjol. Arch. Latinoam. Nutr. 31(4): 809-826.
- Darragh, A. & Hodgkinson, S. 2000. Quantifying the digestibility of dietary protein. J. Nutr. 130: 1850-1856.

-Du, F., Higginbotham, A. & Douglas, W. 2000. Food intake, energy balance and serum leptin concentrations in rats fed low-protein diets. J. Nutr. 130: 514-521.

- FAO. 1985. Necesidades de Energía y de Proteína. México. 112 p.

_____.1990. Utilización de alimentos tropicales: Fríjoles tropicales. 47/4. Roma. 80 p.

_____. 1993. El Maíz en la Nutrición Humana. Roma, Italia. 172 p.

-Gahl, M. Benevenga, N. & Crenshaw, T. 1998. Rates of lysine catabolism are inversely related to rates of protein synthesis when measured concurrently in adult female rats induced to grow at different rates 1,2,3. J. Nutr. 128: 1503-1511.

-Hrupka, J., Lin, Y, Gietzen, D. & Rogers R. 1997. small changes in essentials amino acid concentrations alter diet selection in amino acid-deficient rats. J Nutr. 127: 777-784.

-Hulse, J., Rachie, K. & Billingsley, L.1980. Nutritional standars and methods of evaluation for food legume breeders. Primera edición. International Development Research Centre. Ottawa, Canadá 250 p.

-Hodgkinson, D. 2000. Quantifyng the digestibility of dietary protein. J. nutr. 130: 1850-1856

-Horton, R., Moran. L., Och. R., Rawn D & Scrimgeour, G. 1995. Bioquímica. Prentice Hall Hispanoamerica S.A. Impreso en México. 780 p.

-Instituto Colombiano de Bienestar Familiar, ICBF. 1980. Tabla de Composición de alimentos Colombianos. Subdirección de Nutrición Producción y Distribución de Alimentos. Quinta edición. Bogotá, Colombia. 136 p.

-Ijjász, E., Leighton, M. & Arango, C. 1999. Fríjol. Tierra Americana. 45 p.

-Iossa, S., Lionetti, L., Mollica, M., Barletta A. & Liverini, G. 1999. Energy intake and utilization vary during development in rats. J. Nutr.129: 1593-1596.

-Kantor, L., Varynam J., Allshose J., Putnam J. & Kwan B. 2001. Choose a variety of grains daily, especially whole grains: a challenge for consumers. 131: 473S.

-Machado, O. 1997. Valor nutricional de los alimentos. Elementos de evaluación y factores de calidad. Editorial Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia. 227 p.

-Mahan, K. & Arlin, M. 1995. Krause Nutrición y Dietoterapia. Octava Edición. México Interamericana. 947 p.

-Mendez, J. 1986. Effect of acute starvation and refeeding on body composition of rat fed previously at different levels of dietary protein. J. nutr. 89:513-519.

-Messina, M. 1999. Legumes and soybeans: overview of their nutritional profiles and health effects. Am. J. Clin. Nutr. 70: 439-450.

-Meyer, J. & Clawson, W. 1984. Undernutrition and realimentation in rats and sheep. J. animal Sci. 23, 214, 224.

-Miller, D.& Wise, A. 1986. The energy "catch-up" growth. Nutr. Metab. 20:125-134.

-Moreno, G. 1993. Programa de Investigación sobre Nuevas Variedades (maíz x frijol y frijol x maíz). Facultad de ciencias Básicas. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá.

_____. 2000. Características Bioquímicas de las Proteínas de los Frijoles Cerinza y Experimental 2519 (Frijol x Maíz) (*Phaseolus vulgaris* L. X *Zea mays* L.). Tesis de postgrado en Biología. Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá. 110 p.

-National Academy of Sciences. 1978. Nutrient Requirements of Laboratory Animals. Number 10. Third revised edition. Washington, D.C. 96 p.

-National Research Council. 1985. Guide for the care and use of laboratory animals, Publication no. 85-23 (rev), National Institutes of Health, Bethesda, MD.

-OMS. 1985. Necesidades de Energía y de Proteínas. Informe de una Reunión consultiva Conjunta FAO/ OMS/ ONU de Expertos. Ginebra. 218 p.

-Ozelci, A., Rosmos, D. & Leveille, G. 1978. Influence of initial food restriction on subsequent body weight gain and body fat accumulation in rats. J. Nutr. 108: 1724-1732.

-Pellet, P & Young V. 1980. Nutritional Evaluation of Protein Foods. The United Nations University. 154 p.

-Porter, W. 1986. Genetic control of protein and sulfur contents in dry beans, *Phaseolus vulgaris*. Purdue University. 80 p.

-Pupi, R. 1985. Nutrición. Buenos Aires, Argentina. 712 p.

-Protein Advisory Group of the United Nations System. 1972. Nutritional improvement of Foods Legumes by Breeding. New York. 389 p.

-Sarwar, G. 1997. The protein digestibility-corrected amino acid score method overestimates quality of proteins containing antinutritional factors and poorly digestible proteins supplemented with limiting amino acids in rats. J. Nutr. 127: 758-764.

-Scrimshaw, N Waterlow, J. & Schürsh, B. Energy and Protein Requirements. International Dietary Energy Consultative Group. European journal of clinical Nutrition vol. 50 S. 1.

-Serna, G & Patalagua, S. 1997. Análisis Químico Proximal de un Cruzamiento entre Fríjol Arbustivo (*Phaseolus vulgaris*, L) Variedad ICA Cerinza X Maíz (*Zea mays*, L) Variedad Opaco. Departamento de Química. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá.-Werner, G. 1973.

-Tagle, M. 1980. Nutrición. Editorial Andrés Bello. Segunda edición. Impreso en Chile. 232 p.

-Torregroza, M & Eraso, P. 1977. Variedad mejorada maíz tipo morocho amarillo ICA V 507. ICA. Pasto, Colombia.

-U.S. Department of agriculture, Agriculture Research Service (2000) Report of the dietary guidelines advisory Committee on the dietary guidelines for Americans, 2000, to the secretary of health and human services and the secretary of agriculture.

-Webel, D., Johnson, R. & Baker, D. 1998. Lipopolysaccharide-induced reductions in food intake do not decrease the efficiency of lysine and threonine utilization for protein accretion in chickens. J. Nutr. 128: 1760-1766

-Young, C. & Kantor, L. 1999. Moving towards the food guide pyramid: implications for U.S. Agriculture, economic research service, U.S. Department of agriculture.

www.ncbi.nlm.nih.gov

www.geocities.com/RainForest/4091/info.htm

12. ANEXOS

Anexo 1

Análisis de varianza de un factor, entre la totalidad de las muestras obtenidas en la lectura de concentración proteínas en tres dietas.

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
ICA CERINZA	3	36,3	12,1	0,13
2518	3	36,6	12,2	0,13
2519	3	34,8	11,6	0,12

ANÁLISIS DE VARIANZA							
<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probab.</i>	<i>Valor crítico F</i>	
Entre grupos	0,62	2	0,31	2,45	0,17	5,14	
Dentro de los grupos	0,76	6	0,13				
Total	1,38	8					

Anexo 2.

Análisis de varianza de un factor del total de datos de alimento total consumido.

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
ICA CERINZA	8	2334,2	291,8	675,5
2518	8	1880,2	235,0	731,2
2519	6	1051,0	175,2	929,7

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	46850,6	2	23425,3	30,7	1,11618E-06	3,5
Dentro de los grupos	14495,5	19	762,9	4784		
Total	61346,1	21		61		

Anexo 3.

Prueba T Comparando Cerinza contra 2518 y 2519 con los valores de la cantidad de alimento total consumido.

Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales

	cer	2518	cer	2519
Media	291,8	235,0	291,8	175,2
Varianza	675,5	731,2	675,5	929,7
Observaciones	8,0	8,0	8,0	6,0
Diferencia hipotética de las medias	0,0		0,0	
Grados de libertad	14,0		10,0	
Estadístico t	4,3		7,5	
P(T<=t) una cola	0,0		0,0	
Valor crítico de t (una cola)	1,8		1,8	
P(T<=t) dos colas	0,0		0,0	
Valor crítico de t (dos colas)	2,1		2,2	

Anexo 4.

Prueba T entre los valores final de PER comparando las dietas con fríjol ICA CERINZA contra 2518 y 2519.

Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas

desiguales

PER FINAL	ICA CERINZA	2 518	ICA CERINZA	2519
Media	0,79	0,7	0,8	1,8
Varianza	0,02	0,0	0,0	0,0
Observaciones	8,00	8,0	8,0	6,0
Diferencia hipotética de las medias	0,00		0,0	
Grados de libertad	12,00		8,0	
Estadístico t	0,72		-9,6	
P(T<=t) una cola	0,24		0,0	
Valor crítico de t (una cola)	1,78		1,9	
P(T<=t) dos colas	0,48		0,0	
Valor crítico de t (dos colas)	2,18		2,3	