UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

Efecto de dos procesos térmicos sobre la calidad biológica de la proteína de granos de Guandul (*Cajanus sp*) y Vitabosa (*Mucuna sp*) utilizando como modelo animal pollos de engorde

Martha Victoria Ruiz Duque

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ciencias Agrarias
Departamento Producción Animal
Medellín, Colombia
2015

Efecto de dos procesos térmicos sobre la calidad biológica de la proteína de granos de Guandul (*Cajanus sp*) y Vitabosa (*Mucuna sp*) utilizando como modelo animal pollos de engorde

Martha Victoria Ruiz Duque

Tesis presentada como requisito parcial para optar al título de:
Magister Ciencias Agrarias

Director:
ZTC. D.Sc. Ángel María Giraldo Mejía

Línea de Investigación:
Nutrición Animal

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ciencias Agrarias
Departamento de Producción Animal
Medellín, Colombia
2015

Resumen

Se evaluó el efecto de dos tratamientos térmicos: la cocción (aplicación de calor húmedo en agua en ebullición a 94,4ºC durante 40 minutos) y el tostado (calor seco a 110ºC durante 30 minutos) sobre la calidad biológica de la proteína de *Cajanus sp* y *Mucuna sp* en pollos de engorde. Los parámetros de calidad evaluados fueron PER, NPR, balance de nitrógeno aparente y corregido y la digestibilidad aparente y corregida del nitrógeno. Se utilizaron 135 pollos, de la línea Ross de ocho días de edad, asignados al azar a nueve tratamientos con cinco repeticiones y tres pollos por repetición. Los tratamientos fueron caseína (CA), torta de soya (TS), guandul crudo (GC), guandul cocido (GCO), guandul tostado (GT), mucuna cruda (MC), mucuna cocida (MCO), mucuna tostada (MT) y una dieta libre de nitrógeno (DLN). Las dietas CA y TS se consideraron como dietas de referencia. Las dietas se ajustaron al 10% de proteína cruda, el periodo experimental fue de 10 días durante los cuales se registró el consumo de alimento. Los tres últimos días del ensayo se hizo colecta total de las excretas. Ambos granos fueron sometidos a fraccionamiento de la proteína de acuerdo con su solubilidad en agua, NaCL, etanol e NaOH. Los contenidos de proteína cruda para el grano de guandul crudo, cocido y tostado fueron 18,75; 20,00 y 17,50%. Para la mucuna fueron 24,37; 25,6 y 25,6% respectivamente. Los resultados para PER fueron 0,97 ; 2,10 ; 1,47 ; 2,60 ; 1,16 ; -3,73 ; -3,36 y -5,59 . Para NPR -3,99 ; 1,38 ; 0,71 ; 1,68 ; 0,53 ; -6,45 ; -8,0 y -12,23 . El balance de nitrógeno aparente fue positivo para todos los tratamientos: 1,34 ; 15,67 ; 13,43 ; 10,89 ; 15,75 ; 2,97 ; 1,34; 0,67 , situación similar se presentó para el balance de nitrógeno corregido: 1,71; 16,05 ; 13,81 ; 11,27; 16,13; 3,35; 1,72; 1,05. Los valores en porcentaje para la digestibilidad aparente del nitrógeno fueron: 52,30 ; 90,29 ; 80,65 ; 79,30 ; 79,79 ; 69,78 ; 49,11; 36,29 . Los valores porcentuales para la digestibilidad corregida del nitrógeno fueron: 67,23 ; 92,46 ; 82,97 ; 82,07 ; 81,71 ; 78,62 ; 62,89 y 59,32, para (CA), (TS), (GC), (GCO), (GT), (MC), (MCO), (MT), respectivamente. El fraccionamiento de la proteína por el método de Osborne del grano integral de *Cajanus cajan* entero arrojó los siguientes resultados: albúminas (4,27%), globulinas (2,99%), prolaminas (0,01%), glutelinas (3,95%) y 3,75% para la proteína insoluble o precipitado; cuando el cálculo se realizó con base en el porcentaje de la proteína en el grano desengrasado los resultados fueron: 28,55; 19,95; 0,09; 26,37; 25,03% para albuminas, globulinas, prolaminas, glutelinas y proteína insoluble respectivamente. En grano integral de *Mucuna sp* los valores fueron: 14,12% para las albuminas, 3,0% para las globulinas, 0,19% (prolaminas), glutelinas con 3,0% y 5,22% para la proteína insoluble o precipitado. En el caso del grano desengrasado los resultados para la *Mucuna sp* fueron: 55,30, 11,76; 0,74; 11,76 y 20,45% para las albuminas, globulinas, prolaminas, glutelinas y para la proteína insoluble respectivamente

Palabras clave: Calidad de proteínas de leguminosas, Factores antinutricionales, Procesos térmicos, Fraccionamiento de proteínas, Guandul, Vitabosa

Abstract

The effect of two heat treatments was evaluated: cooking (humid heat in boiling water at 94, 4ºC for 40 minutes) and toast (dry heat oven at 110ºC for 30 minutes) on the biological protein quality of two legumes: pigeon peas (*Cajanus sp*) and velvet bean (*Mucuna sp*) in broilers. The indicators calculated were: PER, NPR apparent and corrected nitrogen balance and corrected apparent digestibility of nitrogen.135 chicks (9 treatments with 5 repetitions and 3 chicks per repetition) of the Ross line 8 days of age, were randomized assigned to 6 experimental diets: raw pigeon pea (GC); cooked pigeon pea (GCO); roasted pigeon pea (GT); velvet bean crude (MC); velvet bean cooked (MCO); velvet bean toasted (MT); two reference diets: casein (CA) and soybean meal (TS) and nitrogen-free diet (DLN). Diets were adjusted to 10% crude protein; the experimental period was 10 days, during which feed intake was recorded. Total excreta collection during last 3 days of the trial was made. Both grains were subjected to protein fractionation by its solubility in different solvents; (Water, NaCl, NaOH and ethanol). The following PER values were obtained: 0,97 ; 2,10 ; 1,47 ; 2,60 ; 1,16 ; -3,73 ; -3,36 ; -5,59 . NPR for different treatments were: -3,99 ; 1,38 ; 0,71 ; 1,68 ; 0,53 ; -6,45 : -8,0 ; -12,23 . Apparent nitrogen balance was positive for all treatments: 1,34 ; 15,67 ; 13,43 ; 10,89 ; 15,75 ; 2,97 ; 1,34 ; 0,67 . Nitrogen balance corrected was also positive: 1,71 ; 16,05 ; 13,81 ; 11,27 ; 16,13; 3,35; 1,72; 1,05. . The percentage values for apparent digestibility of nitrogen were: 52,30 ; 90,29 ; 80,65 ; 79,30 ; 79,79 ; 69,78 ; 49,11 ; 36,29 ; finally percentage values for digestibility corrected of nitrogen were: 67,23 ; 92,46 ; 82,97 ; 82,07 ; 81,71 ; 78,62 ; 62,89 ; 59,32 to (CA), (TS), (GC), (GCO), (GT), (MC); (MCO), (MT) respectively . The protein fractionation made by Osborne method for degreasing grains produced the following results: for guandul based on the whole grain: 4,27% albumins; 2,99% globulins; 0,01% prolamins; 3,95% glutelins; 3,75% insoluble protein precipitate. Based on the percentage defatted protein with guandul the results were: 28,55; 19,95; 0,09; 26,37; 25,03% for albumin, globulin, prolamin, glutelin and insoluble protein respectively. For mucuna beans based on the whole grain values were: 14,12% albumins; 3,0% globulins; 0,19% prolamins; 3,0%, glutelin; 5,22% insoluble protein precipitate. Based on the percentage of defatted protein to mucuna the results were: 55,30, 11,76; 0,74; 11,76; 20,45% for albumins, globulins, prolamins, glutelins and insoluble protein respectively.

Keywords: Quality legume protein, Anti-nutritional factors, Thermal processes, Fraction protein, Pigeonpea, Velvet bean.

Contenido

Pág.

Resumen……III

Abstract……IV

Contenido……V

Lista de Tablas……IX

Lista de Anexos……..XI

Introducción…… 1

1. Marco Teórico…… 2

1.1. Composición química granos de leguminosas……2

1.1.1 Proteína y fracciones proteicas de granos de leguminosa……..2

1.1.1.1. Globulinas……5

1.1.1.2. Albúminas……6

1.1.1.3. Glutelinas……..7

1.1.1.4 Prolaminas……....7

1.1.2 Otros nutrientes de granos de leguminosas……..7

1.1.2.1. Carbohidratos……...7

1.1.2.2. Lípidos……...7

1.1.2.3. Fibra (Pared celular) …… 7

1.1.2.4 Minerales y vitaminas……8

1.2. Composición Química de los granos de guandul y vitabosa……..8

1.2.1. Proteína y fracciones proteicas de guandul y vitabosa……....8

1.2.2. Otros nutrientes de guandul y vitabosa……...11

1.3. Metabolitos Secundarios de las plantas o antinutricionales…..……..14

1.3.1. Clasificación……...14

1.3.1.1. Taninos……..15

Pág.

1.3.1.2. Lectinas…….16
1.3.1.3. Inhibidores de Proteasas……17
1.3.1.4. L-Dopa……17
1.3.2. Metabolitos secundarios o antinutricionales en guandul y vitabosa……...18
1.4 Tratamientos tecnológicos……..18
1.4.1 Tratamientos térmicos……..19
1.4.1.1. Tostado…….20
1.4.1.2. Cocción…….20
1.4.2 Efectos del Calor…….20
1.4.2.1. Desnaturalización de la proteína…….21
1.4.2.2. Digestibilidad de la proteína de leguminosas……22
1.4.3. Tratamientos tecnológicos a granos de guandul y vitabosa… 24
1.4.4 Técnicas para el control de calidad al tratamiento térmico……..26
1.4.4.1. Índice de ureasa…….26
1.4.4.2. Solubilidad de la proteína en KOH……..……...26
1.5 Calidad Biológica de las proteínas…….....27
1.5.1. PER (Protein Efficiency Ratio)…… 28
1.5.2. NPR (Net Protein Ratio)……29
1.5.3. NPU (Net Utilization Protein) ……29
1.5.4. V.B (Valor Biológico) …… 30
1.5.5. Digestibilidad de la proteina ……...……31
1.5.5. Calidad biológica de la proteína de guandul y vitabosa…….....33
2. Objetivos……34
3. Hipótesis…….....34
4. Materiales y Métodos……..34
4.1. Instalaciones.....34
4.2. Materiales …….....35
4.2.1. Granos ……35
4.2.2. Aves 37

4.2.3. Equipos …….....37
4.3. Métodos……37
4.3.1. Métodos para el tratamiento térmico de los granos… …….....38
4.3.2. Dietas experimentales ...39
4.3.3. Determinaciones químicas…… ……40
4.3.3.1. Para los granos……40
4.3.3.1.1. Fraccionamiento de las proteínas de los granos …….40
4.3.3.2. Dietas …40
4.3.3.3. Excretas
4.3.4. Evaluación biológica de la calidad de la proteína……
5. Análisis Estadísticos.....42
6. Resultados y discusión……..42
6.1. Resultados generales para el experimento de guandul (*Cajanus sp*) y vitabosa (*Mucuna sp*)……42
6.1.1. Composición química de los granos……42
6.1.2. Parámetros de control de calidad aplicados a los granos crudos y Procesados de guandul (*Cajanus sp*) y vitabosa (*Mucuna sp*)……..….43
6.1.3 Fraccionamiento de las proteínas a los granos crudos y procesados De guandul (*Cajanus sp*) y vitabosa (*Mucuna sp*)…….……44
6.1.4 Respuesta animal……45
6.15 Parámetros zootécnicos……47
6.2. Resultados específicos para guandul (*Cajanus sp*)….……48
6.2.1. Peso final y ganancia de peso acumulada……48
6.2.2. Consumo y excreción de nitrógeno……..50
6.2.3. Digestibilidad aparente y corregida del nitrógeno……..52
6.2.4 Balance aparente y corregido y retención de nitrógeno……54
6.2.5 Valores de PER y NPR……..57
6.3. Resultados específicos para vitabosa (*Mucuna sp*)……..60
6.3.1. Peso final y ganancia de peso acumulada…….....60
6.3.2. Consumo y excreción de nitrógeno……...61
6.3.3. Digestibilidad aparente y corregida del nitrógeno…….....63
6.3.4 Balance aparente y corregido y retención de nitrógeno…….…..64

6.3.5 Valores de PER y NPR……....66

7. Conclusiones……..68

8. Recomendaciones……68

Anexos……70

Bibliografía……83

Lista de tablas

Pág.

Tabla 1. Proteína y fracciones proteicas de guandul (*Cajanus cajan*)…….10
Tabla 2. Proteína y fracciones proteicas de vitabosa (*Mucuna deeringiana*) Y frijol terciopelo (*Mucuna pruriens*)**…**……..11
Tabla 3. Composición química del grano de guandul (*Cajanus cajan*)……....12
Tabla 4. Composición química del grano de vitabosa (*Mucuna deeringiana*) Y frijol terciopelo (*Mucuna pruriens*)…….13
Tabla 5. Condiciones para la inactivación de antinutricionales en granos de guandul (*Cajanus cajan*)……24
Tabla 6. Condiciones para la inactivación de antinutricionales en granos de vitabosa (*Mucuna deeringiana*) y frijol terciopelo (*Mucuna pruriens*)……..25
Tabla 7. Condiciones experimentales para determinación de la calidad biológica de proteínas…….32
Tabla 8. Composición centesimal de las dietas……36
Tabla 9. Composición nutricional de las dietas…….37
Tabla 10. Composición química de grano de Guandul (*Cajanus cajan*) y Vitabosa (*Mucuna sp*)……43
Tabla 11. Parámetros de control de calidad aplicados a los granos crudos y procesados de guandul y Vitabosa (*Mucuna sp*)……...45
Tabla 12. Fraccionamiento de la proteína de los granos de Guandul (*Cajanus cajan*) y Vitabosa (*Mucuna sp*).....45
Tabla 13. Estadísticos para el peso promedio al inicio del período experimental……..46
Tabla 14. Valores promedio estimados para algunos parámetros zootécnicos……..47

Pág.

Tabla 15. Valores promedio para el peso final y la ganancia de peso acumulada (g)

para los tratamientos con el grano de guandul…….49

Tabla 16. Valores promedio para el consumo y la excreción no corregida de nitrógeno

(g) para los tratamientos relacionados con el grano de guandul…….50

Tabla 17. Valores promedio para la digestibilidad aparente y corregida del nitrógeno (%)para los tratamientos relacionados con el grano de guandul……..53

Tabla 18. Valores promedio para el balance de nitrógeno aparente, balance de nitrógeno corregido y retención de nitrógeno para los tratamientos relacionados con el grano de guandul……..……54

Tabla 19 Valores promedio para PER y el NPR para los tratamientos relacionados con grano de guandul…….57

Tabla 20. Valores promedio para el peso final y la ganancia de peso acumulada (g)

para los tratamientos con el grano de Vitabosa…….60

Tabla 21. Valores promedio para el consumo y la excreción no corregida de nitrógeno

(g) para los tratamientos relacionados con grano de Vitabosa……..63

Tabla 22. Valores promedio para la digestibilidad aparente y corregida del nitrógeno (%)para los tratamientos relacionados con el grano de vitabosa…….62

Tabla 23. Valores promedio para el balance de nitrógeno aparente, balance de nitrógeno corregido y retención de nitrógeno para tratamientos relacionados con Vitabosa……65

Tabla 24. Valores promedio para PER y el NPR para los tratamientos relacionados con grano de Vitabosa……67

Lista de anexos

Anexo 1. Procedimiento GLM – ANAVA para el peso inicial
Anexo 1. Procedimiento GLM – ANAVA para el análisis de regresión entre el peso inicial y el peso final
Anexo 1. Procedimiento GLM – ANAVA para el consumo de nitrógeno para las dieta con guandul y de referencia
Anexo 1. Procedimiento GLM – ANAVA para la excreción de nitrógeno en las dietas con guandul y de referencia
Anexo 1. Procedimiento GLM – ANAVA para el balance de nitrógeno aparente para las dietas con guandul y de referencia
Anexo 1. Procedimiento GLM – ANAVA para el balance de nitrógeno corregido para dietas con Guandul y de referencia
Anexo 1. Procedimiento GLM – ANAVA para la digestibilidad aparente del nitrógeno de las dietas con guandul y de referencia
Anexo 1. Procedimiento GLM – ANAVA para la digestibilidad corregida del nitrógeno de las dietas con guandul y de referencia
Anexo 1. Procedimiento GLM – ANAVA para la ganancia de peso para dietas con guandul y de referencia
Anexo 1. Procedimiento GLM – ANAVA para el peso final de los tratamientos con granos de guandul y de referencia
Anexo 1. Procedimiento GLM – ANAVA para el PER de los tratamientos con granos de guandul y de referencia
Anexo 1. Procedimiento GLM – ANAVA para el PNR de los tratamientos en granos de guandul y de referencia
Anexo 1. Procedimiento GLM – ANAVA para el consumo de Nitrógeno para las dietas con mucuna y de referencia
Anexo 1. Procedimiento GLM – ANAVA para la excreción de nitrógeno en las dietas con mucuna y de referencia
Anexo 1. Procedimiento GLM – ANAVA para el balance de nitrógeno aparente para las dietas con mucuna y de referencia
Anexo 1. Procedimiento GLM – ANAVA para el balance de nitrógeno corregido

para las dietas con mucuna y de referencia
Anexo 1. Procedimiento GLM – ANAVA para la digestibilidad aparente del nitrógeno de las dietas con mucuna y de referencia
Anexo 1. Procedimiento GLM – ANAVA para la digestibilidad corregida del nitrógeno de las dietas con mucuna y de referencia
Anexo 1. Procedimiento GLM – ANAVA para la ganancia de peso para las dietas con mucuna y de referencia
Anexo 1. Procedimiento GLM – ANAVA para el peso final de los tratamientos con granos de mucuna y de referencia
Anexo 1. Procedimiento GLM – ANAVA para el PER de los tratamientos con granos de mucuna y de referencia
Anexo 1. Procedimiento GLM – ANAVA para el PNR de los tratamientos con granos de mucuna y de referencia

Introducción

Las leguminosas de grano están ampliamente distribuidas en los países tropicales y han estado vinculadas ancestralmente a las comunidades rurales bajo esquemas de producción no industrializados, convirtiéndose en un legado agronómico y cultural de sectores campesinos.

Ellas han atraído la atención de las comunidades académicas y ocupan un extenso campo de investigación bajo diferentes enfoques. Uno de ellos, por lo demás bastante frecuentado, se ha dado en evaluaciones basadas en las caracterizaciones químicas, las cuales se asientan en la determinación cuantitativa de las concentraciones de sus fracciones químicas, nutrientes y de los compuestos del metabolismo intermediario vegetal o como se han denominado factores antinutricionales. Una fase especializada de este nivel se ha dirigido a estudios cuyo objetivo ha sido caracterizar con mayor grado de detalle la proteína, cuantificando sus fracciones, su solubilidad en diferentes solventes y sus propiedades funcionales. Otro enfoque que se ha abordado, tal vez con igual nivel de insistencia al anterior, ha sido la evaluación de su inclusión en las dietas utilizando como estrategia el uso de pruebas de alimentación en animales de granja. Un tercer enfoque ha sido la evaluación de diferentes procesos tecnológicos aplicados a estos granos para eliminar o inactivar los compuestos del metabolismo intermediario vegetal o factores antinutricionales. La mayor parte de estos trabajos han centrado su atención en la evaluación del efecto positivo de los diversos procesos tecnológicos aplicados a estos granos en términos de inocuidad y uso seguro en dietas para animales; no obstante la extensa investigación que existe en estos recursos se ha centrado sobre el efecto de éstos en la calidad biológica de la proteína.

La evaluación nutricional de la proteína de las leguminosas de grano puede seguir los derroteros trazados en la evaluación de los alimentos que son útiles a los modelos de producción animal industrializados en la producción de aves y cerdos, soportada en el empleo de los cereales; sus subproductos y coproductos; la soya en sus diferentes presentaciones y las harinas de origen animal. La manera cómo se ha abordado la evaluación de estos alimentos útiles a dichos modelos ha sido mediante la digestibilidad de la proteína, los aminoácidos y el fósforo y la estimación de los valores de energía digestible o metabolizable. Como era de esperarse los requerimientos nutricionales en estas especies se expresan en estos mismos términos; no obstante lo anterior; la evaluación nutricional de estas semillas también se puede guiar por criterios como la digestibilidad fecal, los estudios de balance de nitrógeno o proteína, el PER (Protein Efficiency Ratio), NPR (Net Protein Ratio), NPU (Net Protein Utilization), el VB (Valor Biológico) y las evaluaciones *in vitro*, los cuales constituyen o hacen parte de lo que se conoce como la evaluación de la calidad biológica de la proteína.

En la exploración de métodos de evaluación en esta área se ha conducido ensayos usando como modelos animales los ratones, lo que a juicio de diferentes investigadores limitaría su aplicación en otras especies animales. No es frecuente el empleo de pollos de engorde como modelo animal para la evaluación de la calidad de la proteína de granos de *Cajanus* y *Mucuna* tratados térmicamente; diferente a lo encontrado con la soya y sus productos, la *Canavalia* y para diferentes variedades de *Phaseolus.*

Con base en estas consideraciones se encontró pertinente evaluar la proteína de los granos de guandul (*Cajanus sp*) y el frijol vitabosa (*Mucuna sp*) crudo y sometidos a dos procesos térmicos (cocción y tostado), empleando pollos como modelo animal; tomando como vía su caracterización química asi como la evaluación de la solubilidad de su proteína en diferentes solventes. Esta evaluación también incluyó algunos criterios de calidad biológica de la proteína (digestibilidad fecal, balance de nitrógeno, PER y NPR) en pollos como modelo animal y dos evaluaciones *in vitro*, como fueron el índice de ureasa y la solubilidad en KOH.

1. Marco teórico

1.1. Composición química de granos de leguminosas

1.1.1. Proteína y fracciones proteicas de granos de leguminosas

El estudio del valor nutricional de los granos de leguminosas conlleva a la evaluación de la calidad de sus proteínas como quiera que el alto contenido de este nutriente es su mayor atributo. No obstante hacen aportes importantes de otros nutrientes esta semillas se denominan alimentos proteicos, por la elevada concentración de proteína cruda, cuyo valor oscila entre el 20 y el 50% de la materia seca (Apata, 1990; Igene, 1999, citados por Johnson y Valentine, 2005; Gostschalk y Muller, 1983, citados por Corzo, Chell y Betancurt, 2000). Sin embargo, son los aminoácidos que la constituyen los que caracterizan su calidad (Hsu *et al.*, 1977; Suman *et al*., 1992, citados por Chaparro, Aristizábal y Gil, 2009).

Eggum (1973) citado por Siddhuraju, Vijayakumari y Janardhanan (1996), así como Sing y Eggum (1984) concuerdan en que la calidad de la proteína se expresa en términos de su contenido y del perfil de sus aminoácidos esenciales.

La proteína de la mayoría de estos granos presenta un orden de aminoácidos en el que se destaca el alto contenido de lisina, ácido glutámico, aspártico y arginina pero son deficientes en los aminoácidos azufrados (cisteína y metionina) en comparación con el patrón de aminoácidos de la OMS y la FAO (1973), que son limitantes en nutrición de monogástricos. Así mismo la biodisponibilidad de aminoácidos juega un papel importante en la determinación del valor nutritivo de estas proteínas y está positiva y significativamente correlacionada con el contenido de aminoácidos azufrados.

La evaluación de la calidad de la proteína de estos granos, inicia con la determinación del nitrógeno y el análisis de los aminoácidos; continúa con una serie de mediciones químicas y termina con las pruebas biológicas que pretenden establecer la relación entre el consumo de proteína y los cambios que esta induce. La profundización en el entendimiento del rol de los diferentes factores que determinan el valor nutricional de las proteínas de estos granos, permitirá su uso adecuado en la alimentación animal.

Debido a lo interesante de la composición de la proteína, varios investigadores han estudiado el contenido y la proporción relativa de las fracciones proteínicas en el grano

dada la estrecha relación entre estas y el valor nutricional y la calidad de la proteína total; ya que este asunto, más allá de una división en grupos de proteínas con algunas características físico-químicas comunes, involucra contenido y disponibilidad biológica de aminoácidos esenciales, así como la presencia de varias proteínas menores agrupadas por sus efectos adversos sobre el desempeño animal, en un grupo conocido como factores anti-nutricionales, entre los cuales se encuentran los inhibidores de la tripsina, lectinas, lipoxigenasa y la ureasa, que son relevantes para la calidad nutricional de la semilla confiriéndoles diferentes potencialidades y valor alimenticio. (Casey y Domoney 1984, citados por Adebowale, Adeyemi, Oshodi y Niranjan 2007). (Borroto y Dure 1987; Gorinstein, Zemser, Fiedman, Vasco-Mendez y Paredes-López 1996; Peterson 1987, citados por Lawal, Adebowale, Ogunsanwo, y Bankole 2005). (Machuka 2000). (Shewry, Napier y Tatham 1995, citados por Pugalenthi Vadivel y Siddhuraju 2005). Es sabido además, que las características fisicoquímicas y funcionales de la proteína, también están íntimamente ligadas al contenido y proporción de las diferentes fracciones proteicas. (Chan Chi-Wa y Philips 1994, citados por Gallegos, Pacheco, Betancur y Chel 2004).

El contenido total de nitrógeno de una proteína puede fraccionarse en albuminas, globulinas, prolaminas, glutelinas, proteínas residuales, y nitrógeno no proteico. (Krishna Mintra y Bhatia1977, citados por Shah 1991).

La clasificación de las proteínas acorde a su solubilidad, fue desarrollada por Osborne 1924 y distingue cuatro fracciones diferentes:

- Albúminas: Proteínas solubles en agua
- Globulinas: Proteínas solubles en soluciones neutras de sales
- Prolaminas: Proteínas solubles en alcoholes no absolutos
- Glutaminas: Proteínas solubles en soluciones diluidas de ácidos o bases.

Si bien esta clasificación es muy adecuada para cereales, en granos de leguminosas no esta tan definida las diferentes fracciones solubles; Sauvaire, Baccou y Kobrehel (1984) lo que de alguna forma ha dado pie a múltiples estudios que han utilizado diversidad de soluciones para la extracción de las fracciones de proteína.

Numerosas investigaciones en granos de leguminosas marcan una tendencia con respecto al contenido proporcional de cada una de las fracciones en estos recursos; no obstante algunos trabajos reportan hallazgos diferenciados la tendencia general muestra una mayor porción de proteínas tipo albúmina y globulina, seguido por glutelinas como

grupo proteico individual importante y finalmente prolaminas en pequeñas cantidades o niveles traza. (Nadal, Moreno y Cubero 2004). (Duarte-Correa y Carrison 1986, Barba de la Rosa, Paredes-López, y Gueguen 1992, citados por Búcaro y Bressani 2002). (Nikokyris y Kandylis 1997, citados por gallegos, *et al* 2004).

Algunos autores son más categóricos y reportan hallazgos más concretos asignando valores y proporciones a cada una de las fracciones encontradas: Así

Gómez (1995), citado por Ortiz y Ramírez (2000), presentan proporciones de las fracciones proteicas para la mayoría de las semillas de leguminosa a razón de 1:3:2 para albúminas, globulinas y glutelinas respectivamente.

Otros dan relevancia solo a dos fracciones reportando que en granos de leguminosa las globulinas representan 30-80% de la proteína total de la semilla, mientras la albúmina constituye el resto. (Derbyshire, Wright, y Boulter, 1976); (Mackuka, 2000). (Borroto y Duré 1987, Gorinstein, et al., 1996, Peterson 1987, citados por. Lawal *et al*., 2005).

En los granos de soya, las proteínas tipo globulinas representan hasta el 90% del total de la proteína en la semilla. (Utsumi 1992, citado por Chel, Scilingob, Gallegos, Dávila, y Añón 2007).

No obstante lo anterior es más consistente a lo largo de la revisión la siguiente tendencia en los granos de leguminosa: Globulinas 70%; Albúminas 10 – 20%; Glutelinas 10 -15%; Prolaminas < 3%.

Como la fracción proteica total de estas semillas es una mezcla completa de globulinas, albúminas, glutelinas y prolaminas, es entonces la proporción relativa de cada una de esas fracciones lo que explica las diferencias de su calidad nutricional pues como se dijo anteriormente se ha encontrado que cada una de las fracciones proteínicas es distinta en su composición de aminoácidos. (Neves y Lourenço 2001). (Chan Chi-Wa y Philips 1994, citados por Gallegos *et al* 2004). (Shewry *et al*., 1995, citados por Pugalenthi *et al*., 2005).

En general, para las semillas de leguminosas puede decirse que en todas las fracciones los principales aminoácidos son acido glutámico, acido aspártico, arginina y leucina. Cuando se compara entre las diferentes fracciones, es interesante el hecho de que hay mayor concentración de cisteína – cistina en la fracción soluble en agua (albumina); el nivel de lisina tiende a ser también más alto en esta fracción y en la soluble en sal (globulina) que en las otras, sin embargo, el nivel de muchos de los aminoácidos es muy variable entre las diferentes fracciones proteicas. (Meyer 1971, Boulter y Derbyshire 1971, citados por Sauvaire *et al*., 1984). Singh y Jambunathan (1982). Complementario a lo

anterior, los siguientes autores coinciden que ambas fracciones: globulinas y albuminas son ricas en lisina y otros aminoácidos esenciales; pero discrepan en lo referente a los aminoácidos azufrados reportando que generalmente su contenido es bajo en estas dos fracciones en contraste con los hallados en glutelinas y prolaminas que presentan un contenido más alto de aminoácidos esenciales. (Chan Chi-Wa y Philips 1994 citado por Gallegos *et al* 2004).

Además de la clasificación por su solubilidad, Bliss y Hall (1977), citados por Azinheira (1997) sugirieron que la proteína de las semillas de leguminosas puede dividirse en dos tipos principales de acuerdo a su papel fisiológico en:

- Proteínas de Reserva
- Proteínas Metabólicas

La fracción proteica predominante en la mayoría de las semillas de leguminosa son de reserva o almacenamiento; por lo general estas proteínas se acumulan en grandes cantidades durante su desarrollo; la mayoría están desprovistas de actividad catalítica y no juegan ningún papel estructural en los cotiledones. Se almacenan en la estructura de la membrana como orgánulos (cuerpos de proteína o depósitos de nitrógeno) en las células del parénquima del cotiledón, sobreviven la desecación y maduración de la semilla proporcionando el amoníaco y los esqueletos de carbono necesarios para el desarrollo de las plántulas durante la germinación; este tipo de proteínas de reserva también se nombran globulinas debido a su insolubilidad en agua y solubilidad en soluciones salinas y los dos términos son de uso común intercambiable. (Derbyshire, *et al*., 1976). (Duranti y Gius 1997).

Las globulinas representan las principales proteínas de reserva en las legumbres y la avena Segura, Vásquez y Rubio (1992). Las Glutelinas son normalmente las proteínas de reserva más abundantes de arroz, y las prolaminas en el sorgo y el maíz. (Rodrigues 1991, Wu 1994, Citados por Gorinstein *et al*., 1996).

Las proteínas catalíticas o metabólicas pertenecen en su mayoría a la vasta clase de las albúminas o proteínas solubles en agua, están representadas principalmente por las miles de diferentes enzimas necesarias para el metabolismo de las células del cotiledón y frecuentemente tiene un rol fisiológico. Boye, Zare y Pletch (2010). Duranti y Gius (1997). (Segura y Jiménez 1999, citados por Chel *et al*., 2007)

1.1.1.1. Globulinas

Son proteínas insolubles o muy poco solubles en agua, pero solubles en soluciones neutras de sales como NaCl. En las semillas de leguminosas es la principal fracción

proteica típicamente de almacenamiento o reserva, y representa cerca del 60 – 80% de las proteínas extractables.

Las principales globulinas de los granos de leguminosas son la Legumina y la Vicilina Neves y Lourenço (2001)

Acorde a su coeficiente de sedimentación por centrifugación, estas globulinas de las semillas de leguminosas se clasifican en:

- 7S (7.1S – 8.75S) o Vicelinas
- 11S (10.1S – 14S) o Leguminas

La relación Albúmina:Globulina y Legumina:Vicelina varia marcadamente en las diferentes semillas y por ende la proporción de los aminoácidos contenidos en estas, lo que genera diferencias en el valor nutricional ya que las proteínas de almacenamiento difieren en el contenido de aminoácidos azufrados (Gillespie y Blagrove 1974, citados por Boulter 1982). Así las Proteínas de tipo legumina contienen un mayor porcentaje de metionina y cistina que las proteínas del tipo vicilina 7 s.

Un tercer grupo de proteínas de almacenamiento, diferente a la Legumina y Vicelina fue purificado en semillas del tipo pea y se le conoce como Convicilina. La proteína tiene un perfil de aminoácidos característico y diferente de los de la 7S Vicilina; puntualmente esta nuevo grupo de proteínas de almacenamiento contienen los aminoácidos azufrados, confiriéndole mayor valor nutricional; (Croy, Gatehouse, Tyler y Boulter 1980); contienen muy pocos carbohidratos y una subunidad de PM 71 kDa, en su forma nativa tiene PM de 290 kDa, incluyendo una extensión con una terminal nitrogenada. Existen variaciones cualitativas y cuantitativas en las subunidades dentro y entre líneas de peas; están presentes los aminoácidos azufrados en la Convicilina, mas no en la Vicelina. Se ha reportado la presencia de Convicilina en otras especies de leguminosas de la familia Viceae. (Sáenz de Miera, Ramos y Pérez de la Vega 2008).

1.1.1.2. Albuminas

Las albúminas, son proteínas fácilmente solubles en agua; coagulan con el calor y se precipitan con soluciones salinas saturadas. Comprenden proteínas enzimáticas, inhibidores de proteasas, inhibidores de amilasas y lectinas: tienen un peso molecular con rangos entre 5 y 80 kDa. (Boye *et al*., 2010)

En los vegetales, puntualmente en las leguminosas a este grupo pertenece la legumelina proteínas muy diversas estructural y funcionalmente. (Ward, Uknes y Ryals 1994, citado por Lawal *et al.,* 2005); esta fracción albumínica no es muy abundante en estos granos representando del 15 al 25% de las proteínas extraíbles. (Janardhanan y Lakshmanan 1985, citados por Pugalenthi *et al*., 2005). no obstante las albúminas juegan un papel esencial en estas semillas debido a que esta fracción incluye muchas proteínas

enzimáticas y metabólicas. (Casey, Domoney y Smith 1993; Gueguen 1999, citados por Adebowale *et al.,* 2007); además nutricionalmente las albúminas son de importancia debido a su alto contenido de aminoácidos esenciales como la lisina y los azufrados a pesar de representar una proporción menor con respecto a la globulina y glutelina. (Bhatty 1992, Murray y Rexburgh 1984, citados por Adebowale *et al*., 2007). (Sing y Eggum 1984)

Las proteínas dentro de la clase de las albúmina son más diversas que las globulinas tanto estructural como funcionalmente; dentro de esta clase, las lectinas e inhibidores de proteasa han atraído mucha atención debido a su función de defensa dentro de la planta que los hace potencialmente útiles en estrategias de protección de cultivos que utilizan transgénicos ; pero que igualmente representan una dificultad desde el punto de nutrición animal.(Reek, Kramer, Kanost, Fabrick y Behnke, 1997; Ward, Uknes y Ryals, 1994; citados por Machuka 2000)

1.1.1.3. Glutelinas

A este grupo pertenecen las proteínas solubles en soluciones diluidas de ácidos o bases, pero insolubles en soluciones neutras. Son abundantes en las plantas, principalmente en cereales como la glutenina del trigo y la oryzenina del arroz. Las glutelinas tienen mayores concentraciones de aminoácidos azufrados (metionina y cistina) que las globulinas de ahí el interés nutricional de esta fracción para animales monogástricos. Consecuentemente algunos investigadores han sugerido el uso de variedades con altos niveles de glutelinas para incrementar el valor nutricional de estas semillas. (Singh y Jambunathan 1982).

Prolaminas

Son proteínas solubles en alcoholes al 50 -90%, pero insolubles en alcohol absoluto y otros disolventes neutros, se encuentra únicamente en plantas principalmente en cereales como la zeina del maíz, hordelina de la cebada y gliadina del trigo; en las semillas de las leguminosas se encuentra en niveles traza y está caracterizada por poseer una elevada proporción de prolina y glutamina

1.1.2. Otros nutrientes

1.1.2.1. Carbohidratos

Además de la proteína estos granos hacen aportes energéticos importantes por el contenido de carbohidratos y lípidos; en aquellas semillas no oleaginosas los hidratos de carbono, son una fracción nutritiva destacable, como quiera que representan aproximadamente las tres cuartas partes de la materia seca y abarcan el almidón, los constituyentes de las paredes celulares y los oligosacáridos o alfagalactósidos de sacarosa. (Del Rosario *et al*., 1981; Okee *et al*., 1995 citados por Johnson, y Valentine, .2005); (Saini, 1989; Brenes *et al*., 1989, citados por Brenes y Brenes, 1993).

1.1.2.2. Lípidos

En la mayoría de las leguminosas no oleaginosas, el contenido lipídico es bajo; sin embargo la importancia de esta fracción radica en el aporte de ácidos grasos esenciales ya que los componentes fundamentales de las grasas de estas semillas, son los ácidos oleico y linolénico que representan las dos terceras partes de los ácidos grasos presentes en el grano. (Chatterjee y Bhattacharyya 1986 citados por Shah.1991); (Brenes y Brenes 1993); (Nadal *et al*., 2004)

1.1.2.3. Fibra

La fibra se encuentra presente fundamentalmente en la capa externa de la semilla denominada testa, pero también existe cierta cantidad en las paredes de las células de los cotiledones. La mayor diferencia entre la fibra de la testa y la de los cotiledones es relativa al contenido de celulosa y otros compuestos diferentes a la celulosa. La fibra de las paredes de las células de los cotiledones presenta la siguiente tendencia (cifras aproximadas): pectinas 55%, celulosa 9% y glucanos 6-12%; mientras que la fibra de la capa externa contiene mayor proporción de celulosa 35-57% y menor de hemicelulosas y pectinas... Además, las paredes de las células de los cotiledones no tienen lignina. (Van Laar Tamminga, Williams Verstegen y Engels*.,* 1999 citados por Oliete y Gómez 2007.)

1.1.2.4. Minerales y Vitaminas

El perfil mineral de la mayoría de estas semillas, se caracteriza por presentar contenidos elevados de potasio y fósforo; moderados de calcio y magnesio y niveles bajos de sodio, hierro, zinc, cobre y manganeso (Shah 1991). A pesar de que la concentración de algunos macro-minerales en estos granos es aceptable su disponibilidad se ve afectada por la presencia de fitatos y oxalatos. El ácido fítico es muy reactivo en presencia de iones positivos especialmente Zn, Ca y Fe, con los que forma complejos insolubles que son más difíciles de digerir y absorber. (Sandberg 2002 citado por Oliete y Gómez 2007). Las concentraciones de vitaminas hidrosolubles son medias. (Nadal, *et al*., 2004).

1.2. Composición química de los granos de Guandul y Vitabosa

1.2.1. Proteína y fracciones proteicas

Los granos de Guandul (*Cajanus cajan*), y los de las especies de *Mucuna* como la mayoría de las leguminosas presentan niveles adecuados de proteína. El Guandul (*Cajanus cajan*) y los frijoles del genero mucuna: Vitabosa (*Mucuna deeringiana*) y Frijol terciopelo (*Mucuna pruriens*) son deficientes en triptófano y aminoácidos azufrados totales convirtiéndose la metionina y la cisteína en los aminoácidos limitantes en ellos, (Li, Campabadal y Vargas 1981) en tanto que el contenido de lisina en ambos granos, es un atributo nutricional importante. (Adebowale, Adeyemi y. Oshodi 2005).

Cuando se aplica el criterio del fraccionamiento de la proteína basado en la solubilidad propuesto por Osborne en 1924 citado por Nadal *et al.,* 2004, a granos de Guandul y Vitabosa, se observa que las albúminas y globulinas son las fracciones más representativas en ambos granos; Según Siddhuraju *et al.,* (1996), las globulinas y albúminas juntas constituyen la principal proteína de almacenamiento; ambas fracciones en este grano, son una fuente valiosa de valina y triptófano, pero son deficientes en cistina, metionina y leucina.

Cerca del 83% de las proteínas del frijol terciopelo (*Mucuna pruriens utilis*) lo constituyen las albúminas y la globulina; de las cuales esta última constituye el 62% (Janardhanan y Lakshmanank 1985 citados por Pugalenthi *et al* 2005). Estos autores encontraron que en este grano, las diferentes fracciones proteicas albúmina, globulina prolamina, y glutelina están presentes en una relación de 10:29:2:6 respectivamente; Según estos autores, la principal fracción, la globulina, está constituida principalmente por legumina y vicelina y representa cerca de 60 – 80 % de las proteinas extraídas.; la fracción albúminica representa 15 – 25% de la proteína en el cotiledón; sin embargo su papel es esencial en la semilla debido a que ella incluye proteínas enzimáticas y metabólicas.

Contrario a esto, Adebowale *et al.,* 2007, encontraron que la albúmina es la mayor fracción proteica del frijol Mucuna, seguida por la globulina prolamina y glutelina con niveles de 63,5 – 69,4%, 18,7 – 24,3 %, 6,2 – 15,4% y 0,12 – 0,25% respectivamente; y afirman entonces que debido a los elevados niveles de albúmina en la Mucuna, y siendo esta la principal proteína de reserva, deben jugar un papel muy importante en las semillas. Esta fracción proteica hidrosoluble, representa más del 67,5% del total del extracto proteínico, y es la responsable de la actividad metabólica y enzimática. (Casey *et al*., 1994 citados por Adebowale *et al*., 2007). Adicional a esto, las albúminas tienen importancia nutricional debido a su alto contenido de aminoácidos esenciales como la lisina y los aminoácidos azufrados. (Bhatty *et al.,* 1984, citados por Adebowale *et al.,* 2007).

En los granos de Guandul, Cajanus cajan Sing y Eggum, (1984), encontraron que como en otros granos de leguminosas, en las proteínas de almacenamiento, las globulinas constituyen cerca del 65% del total de la proteína de la semilla; las globulinas son más deficientes en aminoácidos azufrados. La fracción albúminica y la glutelina aunque representan una pequeña proporción, son una muy buena fuente de metionina y cisteína; así los cultivares con relaciones glutelina > globulina sugieren mejor calidad de proteína.

Como en otras leguminosas en el Guandul, las globulinas son la principal proteína de reserva (50 – 72%) principalmente concentrada en los cotiledones y el germen; la cobertura contiene principalmente nitrógeno no proteico y las glutelinas, mientras que las prolaminas son despreciables. (Pande y Pant 1978, Singh Jambunatahan y Guthru 1981, citados por Shah 1991).

Tabla 1. Proteína y fracciones proteicas de guandul (*Cajanus cajan*)

Fracciones Químicas	%	% de la P.B
Proteína Bruta	17,9 – 24,3	
Albuminas	10 -15	7,7 – 9,10
Globulinas	54 – 60	60,3 – 66,2
Glutelinas	10 – 15	19,7 – 23,3
Prolaminas	4 – 5	2,1 – 3,6
Metionina		0,55 – 1,5
Cisteina		0,7 – 1,5
Lisina		5,5 – 8,99
Triptófano		0,8 – 1,25

(Shah.1991). (Li, *et al., 1981*)- (Li, Campabadal Rodríguez y Vargas 1982). (Nwokolo 1987). (Panigrahi, Kuma, Mishra, Mishra, y Jena 2007). (Singh, Jambunathan, Saxena, y Subrahmanyam 1990). (Singh *et al* 1977, citados por Shah 1991). (Singh y Eggum 1984). (Singh, 1993, citado por Panigrahi, Kumar, Mishra, Mishra y Jena 2007)

Tabla 2 Proteína y fracciones proteicas de vitabosa (*Mucuna deeringiana*) y frijol terciopelo (*Mucuna pruriens*)

Fracciones Químicas	Mucuna deeringiana	Mucuna pruriens		
	%	%	% de la P.B	gr/16grN
Proteína Bruta (P.B)	22,01 – 38,2	20,15 – 32,40		
Albuminas		4,9 – 6,0	48,0 – 69,4	
Globulinas		9,0 – 16,7	18,7 – 27,0	
Glutelinas		1,3 – 2,9	0,12 – 4,0	
Prolaminas		0,8 – 2,0	3,0 – 15,4	
Metionina				1,96
Cisteina				1,83
Lisina				9,31

(Adebowale *et al*., 2005). (Adebowale *et al*., 2007). (Chaparro *et al*., 2009)(Corzo *et al.,* 2000). (Encalada 2002). (Ezeagu, Maziya-Dixon y Tarawali, 2003). (Ferreira 2000). (Flores 1997). (Johnson y Valentine 2005). (Kadkade, Micheo, y Luján 1972). (Kwaku y Patterson 1999). (Ruiz, *et al*. 2009) (Vadivel y Janardhanan, 2005 citado por Chaparro 2009). (Siddhuraju, Vijayakumari, y Janardhanan, 1996). (Vadivel y Janardhanan 2000, citados por Pugalenthi *et al*., 2005), (Vadivel y Pugalenthi 2007) (Vadivel y Pugalenthi 2008). (Vivanco 1998).

1.2.2. Otros nutrientes de Guandul y Vitabosa

El Guandul (*Cajanus cajan*) y los frijoles del genero mucuna: Vitabosa (*Mucuna deeringiana*) y Frijol terciopelo (*Mucuna pruriens*), están ampliamente distribuidos en los países tropicales; presentando un amplio rango de adaptación a diferentes condiciones edáficas y climáticas (Panigrahi *et al*., 2007); (Sing *et al.,* 1990); (Vivanco 1998); (Ferreira 2000); (Chaparro *et al*., 2009); (Li, *et al.,*1981); (Li *et al 1982*), por lo que , existe una gran variabilidad en la composición química en función de la especie e incluso de la variedad. (Oliete y Gómez 2007). (Wiseman y Cole, 1988; Gatel 1992, citado por Brenes y Brenes 1993).

Tabla 3. Composición química del grano de guandul (*Cajanus cajan*)

Fracciones Químicas	%
Humedad	6,9 – 9,29
Proteína Bruta (P.B)	17,9 – 24,3
E.E	0,6 – 3,8
Fibra cruda	7,48 – 8,47
Cenizas	3,3 – 4,73
Ca	0,17
P	0,34
K	1,47
Mg	0,17
ELN	54,26 – 58,4
Almidón	54,3 – 59,3
Azúcares solubles	4,2 – 5,5

(Shah 1991). (Li, *et al*., 1981). (Li, et al., 1982). (Nwokolo 1987). (Panigrahi, *et al*., 2007). (Singh, *et al.,* 1990). (Singh *et al* 1977, citados por Shah 1991). (Singh y Eggum 1984). (Singh, 1993, citado por Panigrahi *et al*., 2007).

Tabla 4. Composición química del grano de vitabosa (*Mucuna deeringiana*) y frijol terciopelo (*Mucuna pruriens*)

Fracciones Químicas	*Mucuna deeringiana*	*Mucuna pruriens*
	%	%
Humedad	4,46 – 13,62	7,8 – 11,46
Proteína Bruta (P.B)	22,01 – 38,2	20,15 – 32,40
E.E	2,66 – 8,72	2,83 – 11,1
Fibra cruda	5,79 - 11	1,2 – 13,6
Cenizas	3,1 – 5,6	2,85 – 5,3
Ca		0,19 – 0,51
P		0,09 – 0,67
K		0,15 – 1,39
Mg		0,04 – 0,34
ELN	45,2 – 51,34	22,01 – 56,45
Carbohidratos	45,2	50,6 – 62,32
Almidón		34,0 - 40,4
Azucares solubles		9,2 – 10, 5

(Adebowale *et al*., 2005). (Adebowale *et al*., 2007), (Chaparro *et al*., 2009). (Corzo, *et al*., 2000). (Encalada 2002). (Ezeagu, *et al*., 2003). (Ferreira 2000). (Flores 1997). (Johnson y Valentine 2005). (Kadkade *et al*., 1972). (Kwaku *et al*., 1999). (Ruiz, *et al*. 2009). (Vadivel y Janardhanan, 2005 citado por Chaparro 2009). (Siddhuraju, *et al*., 1996). (Vadivel y Janardhanan 2000, citados por Pugalenthi *et al*., 2005). (Vadivel y Pugalenthi 2007) (Vadivel y Pugalenthi, 2008). (Vivanco 1998).

1.3. Metabolitos secundarios de las plantas o anti-nutricionales

En los granos de leguminosas y otros recursos alimenticios la composición química no corresponde con el valor nutricional debido en parte a la presencia de diversas sustancias bio-activas tóxicas generadas por el metabolismo intermediario vegetal conocidos como los metabolitos secundarios de las plantas (MSP), también denominados factores antinutricionales (FAN). Son sustancias sintetizadas por las plantas para protegerse de depredadores como bacterias, hongos e insectos y otros animales. Pueden aparecer en cualquier parte de la planta incluyendo los frutos y sus raíces. Se asocian con la disminución de la calidad nutricional ya que estos compuestos producen en general una disminución en el consumo voluntario, interfieren en los procesos digestivos afectando adversamente la actividad de las enzimas digestivas generando un efecto que tiene implicaciones nutricionales en términos de la utilización de los nutrientes; esto es un efecto adverso sobre la digestibilidad, disponibilidad y aprovechamiento de proteína y de la energía además comprometen la salud y el potencial productivo de los animales que las consumen. (Savón, e Idania, .2007) ; (Elizalde, Porrilla y Chaparro 2009); (Siddhuraju, Makkar y Becker. 2002, citados por Camelo), (Torres y Díaz 2008) ; (Nieves, 2005 citado por Savón e Idania 2007); (Wiseman y Cole 1988; Gatel 1992 citados por Brenes y Brenes 1993), (Johnson y Valentine 2005).

Resulta paradójico que las semillas de leguminosas, consideradas recursos proteicos no arrojen buenos resultados cuando se hace la evaluación nutricional enfocada en la utilización de la proteína y su calidad biológica. Los bajos indicadores de estos parámetros pueden ser explicados por alteraciones de tipo fisiológico, histológicos asociados al consumo de estos recursos y más concretamente a los FAN. (Rubio y Brenes, 1995)

La acción de los FANs, no sólo interfiere en el aprovechamiento de nutrientes, sino que pueden ocasionar pérdida de proteína endógena, Manifestaciones de toxicidad pueden acompañar el efecto antinutricional de estos compuestos, con efecto hepatotóxico, neurotóxico e inclusive letal. (Liener 1989; Savón *et al*., 2005; Citados por Savón e Idania, 2007)

1.3.1.Clasificación

Savón e Idania, (2007), agrupan los MSP según la composición química en:

- Compuestos fenólicos: (taninos, fitoestrógenos y cumarinas)
- Toxinas nitrogenadas: (alcaloides, glicósidos, cianogénicos, glucosinolatos ,aminoácidos tóxicos, lectinas, e inhibidores de proteasas)
- Terpenos. (lactosas sequiterpénicas, glicósidos cardiotónicos, saponinas)
- Hidrocarburos poliacetilénicos
- Oxalatos
- Fitatos

Según la resistencia al calor, Belmar 2001; Belmar y Nava 2000 citados por *Elizalde et al*., 2009 los clasifican en:

- Termoestables: (factores antigénicos, oligosacáridos y aminoácidos no proteicos tóxicos, saponinas, estrógenos, cianógenos, fitatos; siendo los más importantes: los factores antigénicos, los oligosacáridos, las saponinas y los fitatos).
- Termolábiles: (inhibidores de proteasas(tripsina y quimiotripsina), lectinas, goitrógenos y antivitaminas; siendo los más importantes los inhibidores de proteasas y las lectinas)

1.3.1.1. Taninos

Con el nombre genérico de taninos se agrupan una serie de compuestos fenólicos solubles en agua con un peso molecular de 500-3000. Pueden clasificarse en: Hidrolizables (pueden ser degradados a azúcares y ácidos fenólicos en el medio intestinal), y Condensados (tan solo contienen núcleos fenólicos y no son hidrolizables, tendiendo a polimerizarse al tratamiento con ácido). En los granos de las leguminosas, estos compuestos se encuentran localizados en la cascarilla de las semillas.

Los taninos poseen la capacidad de formar complejos con los nutrientes de la ración, primordialmente la proteína, haciéndolos resistentes a la acción de los enzimas digestivas (Griffiths, 1981 citado por Brenes y Brenes, 1993). o por sí mismos, inactivar estas enzimas. (Longstaff y McNab, 1991 citados por Brenes y Brenes, 1993).

La acción antinutritiva de estas substancias puede llevarse a cabo por medio de dos mecanismos. Por un lado, los fenoles procedentes de la hidrólisis intestinal de los taninos hidrolizables pueden ser absorbidos por el animal y dado que en su detoxicación se requieren metionina y colina, (Blair y Mitaru, 1983 citado por Rubio y Brenes 1995), se agrava las deficiencias ya existentes en animales alimentados con semillas de leguminosas. De todos modos, la actividad más interesante desde el punto de vista nutritivo es probablemente la capacidad de estas substancias para unirse a proteínas, debido a la gran afinidad del oxígeno carboxílico de éstas para formar enlaces de hidrógeno. Estos complejos tanino-proteína han sido responsabilizados de descensos en la biodisponibilidad de aminoácidos y de incrementos en la excreción fecal de nitrógeno, que acarrean un retraso en el crecimiento. Por otra parte, esta misma afinidad por moléculas proteicas da lugar a la inhibición de la actividad enzimática intestinal. El efecto final de todo ello es un aumento en la excreción de proteínas, con descenso en la digestibilidad del nitrógeno y por tanto en el ritmo de crecimiento y en la producción. (Martin-Tanguy, Guillaume y Kossa 1977 Citado por Rubio y Brenes 1995)

1.3.1.2. Lectinas

El término lectina fue acuñado para definir un tipo de glicoproteínas de origen vegetal que aglutinan células o precipitan polisacáridos o glucoconjugados y muestran especificidad de tipo anticuerpo para unirse a carbohidratos (azúcares específicos). (Goldstein 1980 citado por Liener, 1986 citado por Rubio y Brenes 1995) Son substancias de origen no inmune la mayoría resistentes a la hidrólisis causada por las enzimas digestivas proteolíticas, esto debido a la resistencia que le confiere los puentes disulfuros

abundantes en su molécula de cistina; permitiendo que permanezcan activas en el intestino; uniéndose a los receptores localizados en la superficie del epitelio intestinal. Tienen alta especificidad para reconocer carbohidratos; su principal efecto está relacionado con el hecho de que se adhieren a los carbohidratos sobre la superficie del intestino delgado (duodeno y yeyuno) y causan daños en la pared intestinal, afectando los procesos de absorción y transporte de nutrimentos a través de ella Hernández 2005, Lis and (Sharon 1998 citados por Elizalde *et al.,* 2009). (Jaffe 1980; Nakata y Kimura, 1985 citados por Brenes y Brenes 1993).

Su interés en nutrición se ha suscitado a raíz de los estudios sobre los efectos fisiológicos y metabólicos de las lectinas presentes en los alimentos tanto para consumo animal como humano. Prácticamente todos los vegetales analizados y algunos organismos animales las contienen. Pueden llegar a constituir hasta el 10% del nitrógeno total en los extractos de semillas maduras, pero tan sólo algunas de ellas han mostrado efectos deletéreos en los animales tras su consumo (Liener 1986 citado por Rubio y Brenes 1995). El modo de acción en las lectinas que muestran actividad tóxica- puede describirse haciendo referencia a la Interacción con la mucosa intestinal que se lleva a cabo tanto en la membrana celular como en el interior de los enterocitos, y con los enzimas que estos producen. La unión de las lectinas a los enterocitos se acompaña de lesiones que afectan a la relación vellosidad/cripta, significativamente reducida en el duodeno (Rouanet, Lafont, Chalet, Creppy y Besancon., 1985 citados por Rubio y Brenes 1995), rotura, fragmentación, vesiculación y aplastamiento de micro vellosidades, degeneración hidrópica mitocondrial (Pusztai Croy, Grant y Stewart 1983, citado por Rubio y Brenes 1995) y otras alteraciones en el recambio y división celular. Evidentemente, todas estas alteraciones en la superficie y estructura íntima de la célula repercuten directamente no sólo en la absorción de substancias, sino también en la producción y funcionalidad de los enzimas digestivos producidos por los propios enterocitos. Aparte de esta acción indirecta, se han observado inhibiciones de las peptidasas del micro vellosidades in vitro. (Kim Brophy y Nicholson, 1976 citado por Rubio y Brenes 1995. Esto puede alterar, aún en mayor medida, el transporte de los productos de la hidrólisis proteica a través de las membranas, contribuyendo al observado incremento en la excreción de nitrógeno y consiguiente descenso en la utilización de la proteína. (Pusztai, Clarke y King 1979, Pusztai, Clarke, Grant y Stewart 1981, Pusztai King y Clarke 1982 citados por Rubio y Brenes 1995), causando un retraso acusado en el crecimiento de los animales e incluso la muerte en períodos muy cortos de tiempo.

Como consecuencia a la acción de las lectinas el intestino se vuelve más permeable, de ahí que las lectinas y otros péptidos puedan ser absorbidos y tengan efectos perjudiciales sobre el sistema inmunológico y sobre algunos órganos, la unión de las lectinas y la mucosa intestinal produce un cambio en la actividad de las enzimas digestivas, una hipersecreción de proteína endógena debido a la descamación de células dañadas, un aumento en la producción de mucinas y una pérdida de proteínas del plasma en el lumen intestinal; además, existe la posibilidad que, debido al daño que infligen las lectinas a la mucosa intestinal, algunas bacterias puedan encontrar una ruta de ingreso al sistema circulatorio y de esta forma infecten órganos internos; (Elizalde *et al*., 2009).

1.3.1.3. Inhibidores de proteasas

Estos factores se pueden definir como compuestos termo lábiles de naturaleza proteica, que, inhiben las enzimas digestivas proteolíticas o inducen a una hidrolisis incompleta de la de las cadenas peptídicas de la proteínas de la dieta disminuyendo su digestibilidad Elizalde, Porrilla y Chaparro 2009 Estos efectos se producen mediante la formación de un complejo enzima-inhibidor estable (debido a la formación de un gran número de enlaces complementarios en la zona de contacto) e inactivo, que transita a lo largo del tracto digestivo sin ser atacado. Las más conocidas tienen actividad específica antitripsínica y antiquimotripsínica. (Griffiths, 1984 citado por Brenes y Brenes, 1993). El efecto general de estos inhibidores de proteasas además de reducir la digestibilidad de las proteínas es incrementar las secreciones digestivas pancreáticas que agrava la situación pues genera una perdida endógena de aminoácidos azufrados, dado que estas secreciones enzimáticas tripsina, elastasa, amilasa y quimiotripsina son ricas en cistina y metionina generando una gran pérdida endógena de estos por vía digestiva sin permitir su uso para la síntesis de tejidos. (Liener 1979 citado por Rubio y Brenes 1995), lo que agudiza el efecto deletéreo sobre el desempeño animal ya limitado por la deficiencia intrínseca de estos aminoácidos en el grano. Dando lugar además a una serie de alteraciones fisiológicas como la hipertrofia del páncreas y a la subutilización de la proteína dietaria. (Elizalde *et al*., 2009). (Liener, 1979 citado por Rubio y Brenes 1995). (Leterme y Beckers, 1989 citado por Brenes y Brenes, 1993). (Liener, 1980, citado por Rubio y Brenes 1995).

1.3.1.4. L-Dopa

La L-Dopa o (L)-3,4-dihidroxifenilalanina es un aminoácido no proteico precursor del neurotransmisor dopamina que es farmacológicamente activo. Dosis altas de L_Dopa puede causar un estado confusional tóxico; además de trastornos gastrointestinales como nauseas, vómito y anorexia. (Buckles, 1995; Infante *et al.,* 1990 citados por Chaparro 2009). (Vivanco 1998). En animales monogástricos causa desórdenes reproductivos, efectos teratogénicos y daños en órganos. (Del Carmen, Gernat, Myhrman y Carew 1999). Por su estructura química la L-_Dopa es oxidable a pH alcalino y a altas temperaturas (70-100 ºC). En condiciones de suficiente humedad los productos de oxidación de la L-Dopa se conjugan con los enlaces sulfhidrilo (SH) de la cisteína en las proteínas, formando un enlace que conlleva a la polimerización de las proteínas, con la producción de moléculas altamente reactivas que reaccionan con otros componentes del alimento y que producen compuestos coloreados que reducen la calidad del alimento. Siddhuraju y Becker, 2001 Takasaki y Kawakishi 1997 citados por Chaparro *et al*., 2009.

1.3.2. Metabolitos secundarios o anti-nutricionales en Guandul y Vitabosa

Como en otros granos de leguminosas las semillas de Guandul (*Cajanus cajan*), presentan MSP siendo los inhibidores de proteasas, (Singh 1988) (Singh et al 1990), los taninos (Singh 1988) (Singh 1993) y las lectinas, los más destacados. (Smartt 1990, citado por Panigrahi *et al*., 2007)

Los MSP más importantes identificados en las especies de Mucuna son L-Dopa, fenoles, taninos, inhibidores de proteasas, lectinas y ácido fítico. (Adebowale et al., 2005). (Gurumoorthi Janardhanan y Myhrman, 2008, Ravindran y Ravindran, 1988; citados por Chaparro 2009); (Ravindran y Ravindran, 1988, Lord y Robertus citados por Johnson, y Valentine 2005). (Siddhuraju, Vijayakumari, y Janardhanan 1996). (Siddhuraju y Becker, 2005).

1.4. Tratamientos Tecnológicos

La adecuada aplicación de diversos tratamientos tecnológicos a estos granos, permite inactivar, eliminar o disminuir en las proteínas y otras moléculas, sustancias y agentes desencadenantes de interacciones que producen efectos adversos sobre la salud intestinal y el desempeño de los animales, haciéndolos aptos para introducirlos en formulación y diseño de dietas para animales de producción de forma segura. Los tratamientos potenciales son numerosos y su elección está en función del sustrato, de su morfología y textura, de su composición y de la localización de los componentes, así como de la sensibilidad de éstos a los diferentes factores físico-químicos que pueden desencadenarse. (Brenes y J. Brenes, 1993).

Para Nava Ruiz y Belmar (1999) citados por Savón e Idania (2007) los procesos utilizados para la reducción o eliminación de MSP son:

- Remojado en agua
- Tratamientos químicos: álcalis, ácidos y solventes
- Tratamientos enzimáticos
- Tratamientos físicos
- Ruptura mecánica: molinado, descascarado,
- pulverización, granulación, picado
- Extrusión
- Calor húmedo o seco
- Presión
- Radiaciones
- Procesos de germinación y fermentación
- Cruzamiento y manipulación genética

Los taninos son generalmente bastante resistentes al calor. El descascarillado es el mejor proceso para eliminar estos factores ya que se encuentran presentes en la cascarilla. El remojo en soluciones acuosas y alcalinas solubiliza y modifica los taninos. (Chavan et al., 1979 citados por Brenes y J. Brenes, 1993).

Las lectinas y los inhibidores de las proteasas, son inactivadas por el tratamiento térmico dependiendo su inactivación de la temperatura alcanzada. (Brenes y J. Brenes, 1993).

Las lectinas son más susceptibles a la desnaturalización por calor y el procesado que los inhibidores de la tripsina. (Belmar 2001; Belmar y Nava 2007; Salgado y Valdés s.f., citados por Elizalde *et al.,* 2009).

Mediante la combinación de métodos fisicoquímicos como la hidratación, germinación, cocción en microondas y tostado se reduce la L-Dopa. La hidratación en agua destilada no reduce significativamente el contenido de L-Dopa en M.pruriens, mientras que la hidratación en soluciones alcalinas si la disminuye. El tostado, reduce en un 16 a 34% la L-Dopa debido posiblemente a la oxidación parcial o racemización de este compuesto. (Gurumoorthi *et al*. 2008, citados por Chaparro *et al.,* 2009)

1.4.1.Tratamientos térmicos

De todos los tratamientos tecnológicos, el calor, solo, o en combinación con otras técnicas, es uno de los métodos más efectivos; su utilización en forma mecánica, hidro-térmica y térmica en las semillas, busca la inactivación o reducción los MSP termolábiles presentes en ellas; Brenes y J. Brenes, 1993. (Bakr y Gowish, 1991.citados por Naveeda yJamuna 2004.)

Por lo tanto, los MSP termolábiles pueden ser inactivados por diferentes procesos térmicos simples y tradicionales como el tostado y la cocción. Lon Wo, E. 2007 Sin embargo debido a que frecuentemente coexisten diferentes MSP en especies individuales de una misma variedad tropical, los procesos de inactivación deben involucrar más de un proceso o metodologías más rigurosas como como afirman Brenes y Brenes (1993), en el siguiente listado:

- Extrusión
- Radiación infrarroja
- Micronizado
- Autoclave Vapor
- Granulación

La efectividad de estos tratamientos depende de una combinación de factores que se relacionan con la temperatura, el tiempo, el tamaño de la partícula del alimento, la humedad inicial y la cantidad de agua añadida durante el proceso de calentamiento. (Van der Poel 1989, citado por Brenes y Brenes 1993)

El tratamiento térmico ha sido efectivo para inhibidores de proteasas y lectinas, sin embargo ha sido cuestionable para taninos y fitatos. (Savón e Idania 2007)

1.4.1.1. Tostado

El proceso de tostar los granos puede ser artesanal de forma similar al tostado tradicional del café, llevado a cabo en una cazuela, sobre una plancha de zinc o en un tostador eléctrico, o a gas. Los granos deben tomar una coloración pardo claro, pues el exceso de calor inactiva sustancias nutritivas necesarias como son los aminoácidos y las vitaminas, (Lon Wo, E. 2007)

1.4.1.2. Cocción

Los granos procedentes de un proceso de remojo se someten a cocción en agua en una relación 1:3 (peso del grano/ volumen del líquido). El tiempo de cocción no debe exceder de los 35 a 45 minutos de ebullición, para evitar la pérdida de nutrientes como aminoácidos y proteínas. , Es recomendable remojar previamente las semillas de leguminosas, en soluciones acuosas como: agua, ácido cítrico 0.1 % y bicarbonato sódico 0.07 %, en una relación 1:3 (peso del grano/ volumen del líquido). Este procedimiento puede tener una duración de hasta 9 o 12 horas, dependiendo de las características de las cubiertas de las semillas, y se realiza a temperatura ambiente constituyendo así las de más interés para la alimentación de animales no rumiantes. (Lon Wo, E. 2007)

1.4.2. Efectos del calor

Osborne (1917) citado por Nadal, Moreno y Cubero 2004, asegura que el valor nutritivo de algunos alimentos ricos en proteína aumenta drásticamente tras un tratamiento térmico. Además de la inactivación de los MSP, los tratamientos térmicos, mejoran las propiedades organolépticas, alteran la forma física, afectan las propiedades físico-químicas de los alimentos; además incrementan la biodisponibilidad de ciertos principios nutritivos que hacen parte de su composición química como los carbohidratos por la gelatinización de los almidones y las proteínas mediante su desnaturalización parcial. (Elizalde *et al*, 2009); (Lon Wo, 2007).

El efecto del calor sobre los MSP es alterar la integridad de la estructura química o niveles de organización de estas proteínas, sostenida por los enlaces químicos, que se destruyen bajo su acción (desnaturalización) .Cualquier cambio en los niveles de organización de una proteína puede hacerla disfuncional. Burns, 1987 citado por Brenes, A. y Brenes, J. 1993.

1.4.2.1. Desnaturalización

La desnaturalización, es la pérdida o destrucción de la estructura terciaria de una proteína, en la que la hélice α cambia de conformación y pasa de una forma plegada o enroscada a una forma desenroscada, desplegada o estirada generada por la desestabilización de las interacciones que la mantienen cuando se rompen los enlaces de hidrógeno.. Las alteraciones o cambios en el plegamiento de la hélice α pueden afectar la especificidad de una proteína al modificar la configuración externa que cambia la superficie e impide que la molécula proteica pueda reaccionar químicamente con una sustancia específica. Para que una reacción tenga lugar el acoplamiento entre la sustancia reaccionante y la proteína debe ser perfecto y los átomos de ambas moléculas deben estar lo suficientemente cerca para reaccionar. Se pueden afectar la estructura secundaria interfiriendo sobre los puentes de hidrogeno y salinos; también la cuaternaria pero no se producen cambios en la estructura primaria, esto es que es posible la desnaturalización sin rompimiento de los enlaces peptídicos. Estos cambios estructurales en la proteína desnaturalizada afectan sus propiedades biológicas y su solubilidad, al exponer sus grupos hidrofóbicos haciéndola insoluble. Generalmente una proteína

desnaturalizada se coagula. La desnaturalización es generalmente un proceso irreversible, fuertemente endotérmico, que produce un aumento de la entropía.

La desnaturalización de las proteínas se produce como consecuencia de cambios en el ambiente que las rodea; así se puede dar además de la desnaturalización térmica, la desnaturalización química y la desnaturalización mecánica. (Galvez Flores y Gonzalez, 2006).

Compuestos químicos y condiciones que causan desnaturalización:

- Calor: Puede hacer que las moléculas vibren produciendo el rompimiento de los puentes de hidrogeno o salinos.
- Soluciones de urea: Rompe puentes de hidrogeno por la competencia con la proteína para formarlos con sus terminaciones amidas.
- Solventes orgánicos: Alcohol etílico Acetona: Interfieren con los puentes de hidrogeno de las proteínas pues los alcoholes pueden formarlos.
- Ácidos o bases fuertes: Rompe puentes de hidrógeno y salinos.
- Sales de metales pesados: Rompe puentes de hidrógeno y salinos.
- Reactivos alcaloides: Rompe puentes de hidrógeno y salinos.
- Agitación – movimientos violentos: Hace que la proteína se precipite y se coagule.
- Detergentes: Rompe puentes de hidrógenos y salinos.
- Radiación ultravioleta: Puede hacer que las moléculas vibren produciendo el rompimiento de los puentes de hidrogeno o salinos

1.4.2.2. Digestibilidad de las proteínas de leguminosas

Está demostrado que algunas proporciones de las proteínas de los granos de leguminosas no pueden ser utilizadas por los animales que las consumen es decir que su digestibilidad es limitada; esta resistencia a la proteólisis que muestran las proteínas de las leguminosas en estado natural, se ha aducido como un factor determinante de su bajo valor nutritivo y es atribuida a su estructura (Romero y Ryan, 1978 citado por Rubio y Brenes 1995). (Hsu, Vavka, Saterlee y Miller 1977, citados por Habiba 2002); así lo corroboran Deshpande y Nielsen (1987) citados por Oliete y Gómez (2007) al afirmar que las proteínas de las legumbres son muy resistentes a la digestión de endopeptidasas como la pepsina del estómago y la tripsina y quimiotripsina del intestino delgado, debido a su estructura compacta. Confirmación de estos hechos son las investigaciones llevadas a cabo por Guenguen y Baniel (1990) citados por Rubio y Brenes (1995), quienes demostraron que las estructuras cuaternarias de las globulinas de las leguminosas son muy compactas, poco accesibles a los enzimas y por tanto resistentes a la proteólisis in vitro.

Liener (1976) y Romero y Ryan en su trabajo de 1978 citados por Rubio y Brenes (1995), encontraron que existen un número relativamente grande de péptidos resistentes a la tripsina explicado por un mecanismo que podría denominarse como una restricción conformacional durante la hidrolisis de la molécula nativa. Lo que indica que la resistencia o susceptibilidad a la proteosis enzimática está muy asociada a la estructura terciaria y

cuaternaria de las moléculas y depende de las características estructurales (% de lámina β) de cada proteína y sus constituyentes; por ejemplo los carbohidratos en las glicoproteínas pueden incrementar su resistencia a la hidrolisis (Genovese y Lajolo 1998. citados por Sathe y Venkatachalam 2007), en tanto que algunas moléculas presentan alta susceptibilidad a la hidrolisis tripsica lo que indica la presencia de una cantidad de puentes de hidrogeno extremadamente tripsicolabiles. (Romero y Ryan 1978 citado por Rubio y Brenes 1995).

Es sabida la importancia de la estructura terciaria en la digestión. Así, Kakade (1974) citado por Rubio y Brenes (1995), ha argumentado que el incremento en la digestibilidad de muchos alimentos ricos en proteínas tras el tratamiento térmico se debe, al menos en parte, a la desnaturalización de su estructura tridimensional. Fukishima (1968) citado por Rubio y Brenes (1995), demostró así mismo que la conformación enrollada de la proteína de soya resiste la rotura hasta que su forma es alterada.

Las proteínas de los granos de leguminosas o algunas fracciones de la misma son marcadamente resistentes a la acción de las proteasas a menos que sean sometidas a cocción u otra forma de proceso térmico. (Liener, 1976, citado por Singh 1993); o como lo explican otros autores: algunas proteínas o partes de la misma tienen una naturaleza refractaria cuando no han sido desnaturalizadas

El incremento de la proteosis de las proteínas o sus fracciones por el efecto del calor ha sido bien documentado. (Romero y Ryan 1978; Vijayakumary *et al* 1988; Kadam *et al* 1986; citados por Sathe y Venkatachalam 2007). El mecanismo de acción de este fenómeno puede estar basado en el hecho de que del calor altera la organización de la estructura tridimensional o conformación nativa de la proteína mejorando la acción proteolítica de las enzimas y por ende su digestibilidad; el efecto del tratamiento térmico en estas proteínas globulares de reservas sugiere que el calor no causa mayor cambio en la estructura secundaria pero si altera la terciaria y cuaternaria afectando la superficies plegadas hidrofilicas generando un quiebre de las interacciones y aumentando la hidrolisis. Se sugiere que existen diferencias en la estabilidad térmica y la hidrofobicidad de la superficie y la solubilidad. (Genovese Lajolo 1996 citados por Sathe y Venkatachalam 2007).

Las proteínas sufren diversos grados de desnaturalización durante los procesos o tratamientos tecnológicos afectando las propiedades funcionales de los alimentos; así, algunas desnaturalizaciones tienen ventajas médicas, procesos bioquímicos y nutricionales; las proteínas parcialmente desnaturalizadas son más digestibles y tienen mejores propiedades que la proteína nativa; sin embargo cuando los tratamientos son inadecuados, se produce la desnaturalización total que induce a la inactividad e insolubilización de la proteína.

Si el tratamiento calórico es adecuado, consigue eliminar sustancias indeseables y a su vez permite un aumento de los carbohidratos disponibles y la energía metabolizable sin que altere el patrón de aminoácidos principalmente los azufrados y la lisina.; sin embargo cuando el calor es excesivo, se aceleran las interacciones carbohidratos-proteína y otras reacciones entre los grupos aminos libres de la lisina y grupos amidas de la

glutamina y asparagina, formando enlaces de amidas entre el grupo amino Ypsilón de la lisina y el grupo carboxilo de los ácidos aspártico o glutámico con eliminación de amonio lo que reduce la digestibilidad de la proteína y disponibilidad de aminoácidos aún antes de que ocurra una sustancial reducción en la energía metabolizable. (Lon Wo, E. 2007). Al respecto Savón e Idania (2007), afirman que debe considerarse que buena parte de los procesos aplicados a los alimentos tienen como efecto colateral la disminución del potencial nutritivo de los alimentos como ratifican Elizalde *et al*., 2009; Lon Wo, (2007) Brenes y J. Brenes, (1993) cuando manifiestan que las propiedades físico-químicas de las proteínas, aminoácidos y vitaminas pueden sufrir cambios significativos por efecto de tratamientos

Cuando se procesan o someten a tratamientos tecnológicos los granos de leguminosas, debe controlarse estrictamente el tiempo y la temperatura a las que son sometidos, para no afectar drásticamente la calidad de la proteína de los mismos.

Se ha sugerido que la estructura primaria de las proteínas (su secuencia aminoacídica) puede influenciar su digestibilidad. Por ejemplo, la mayor digestibilidad de la proteína de arroz, en relación con la de otros cereales puede ser debida a la preferencia por parte de la tripsina por péptidos con lisina y arginina (Kurien, swaminathan, subrahmanyan 1961 citado por Rubio y Brenes 1995). Los restos con prolina parecen ser muy resistentes a la degradación trípsica. Bell, (1954) citado por Rubio y Brenes (1995).

En estado natural, muchas de estas proteínas están englobadas en estructuras hidrocarbonadas como celulosas y hemicelulosas. Dado que los enzimas de los animales monogástricos muestran una muy limitada actividad frente a estas moléculas, las proteínas celulares se encuentran protegidas frente a los enzimas proteolíticos. En este sentido, Saunders, Walker y Kohler (1969), citado por Rubio y Brenes (1995) observaron un incremento en el valor nutritivo de productos residuales del trigo tras el peletizado de las raciones, incremento que se atribuyó a la rotura de las paredes celulares y a la exposición del contenido celular a las enzimas digestivas

1.4.3.Tratamientos Tecnológicos a granos de Guandul y Vitabosa.

Las siguientes tablas, resumen la variedad de procedimientos y propuestas de tratamientos para la inactivación de los metabolitos secundarios de las plantas de diversos investigadores sobre los granos de Guandul y Mucuna:

Tabla 5. Condiciones para la inactivación de antinutricionales de guandul *(Cajanus cajan)*

	Remojo			Tratamiento Térmico		
Autor	Procesos al grano		Solvente	Tipo	Temperatura	Tiempo
Singh 1993	Molido	Con Cobertura		Cocción 15 lb presión		15 min
	Molido	Descascarado		Cocción 15 lb presión		15 min
Nwokolo 1987				Tostado	95ºC	48h
Singh 1988		Con cobertura	Agua	Cocción		

Tabla 6. Condiciones para inactivación de anti-nutricionales de vitabosa (*Mucuna sp*)

	Remojo							Tratamiento Térmico		
Autor	pH	Relación w/v	Temperatura	Tiempo	Procesos al grano		Solvente	Tipo	Temperatura	Tiempo
Teixeira *et al*. 2003	neutro	1:4	ambiente	55h	cortes 1mm	descascarado				
Teixeira *et al*. 2003	neutro	1:4	66º C	3h	cortes 1mm	descascarado				
Teixeira *et al*. 2003	neutro	1:4	95-100ºC	1h	cortes 1mm	descascarado				
Teixeira *et al*. 2003	3	1:4	ambiente		cortes 1mm	descascarado	ácido cítrico			
Vadivel y Pugalenthi 2009	8,6	1:10	ambiente	4h	entero		H2O+0,2%NaHCO3	autoclave 15 lb	121ºC	30min
Vadivel y Pugalenthi 2009	8,6	1:10	ambiente	4h	entero	descascarado	H2O+0,2%NaHCO3	tostado	100-110ºC	30min
Vadivel y Pugalenthi 2008	8,6	1:10	ambiente	4h	entero	descascarado	H2O+0,2%NaHCO3			
Vadivel y Pugalenthi 2008	8,6	1:10	ambiente	4h	entero	descascarado	H2O+1%CaCl2			
Vadivel y Pugalenthi 2008	8,6	1:10	ambiente	4h	entero	descascarado	H2O+1%NaCl			
Vadivel y Pugalenthi 2008	8,6	1:10	ambiente	4h	entero	descascarado	H2O+0,2%NaHCO3	Cocción	90-95ºC	1h
Vadivel y Pugalenthi 2007	neutro	1:10	ambiente	6h			H2O destilada			
Vadivel y Pugalenthi 2007								Cocción	90-95ºC	1h
Vadivel y Pugalenthi 2007								Autoclave 15lb	121ºC	30min
Vadivel y Pugalenthi 2007								Tostado	100-110ºC	30min
Johnson y Valentine 2005		1:15		6d		descascarado	H2O+úrea			
Johnson y Valentine 2005	neutro	1:15				descascarado	H2O			
Johnson y Valentine 2005	neutro	1:15		3h		descascarado	H2O			
Johnson y Valentine 2005	neutro	1:15		3h		descascarado	H2O			
Johnson y Valentine 2005	neutro	1:15				descascarado	H2O	cocción		
Johnson y Valentine 2005	neutro	1:15		3h		descascarado	H2O	tostado		
Johnson y Valentine 2005	neutro	1:15		3h		descascarado	H2O	autoclave 1,2 k/lb	105ºC	30min
Johnson y Valentine 2005	neutro	1:15				con cobertura	H2O	cocción		66 min
Chaparro 2009	8,5	10:100	ambiente	24h	entero		H2O+0,1%NaHCO3			
Chaparro 2009	8,8	10:100	ambiente	24h	entero		H2O+0,1%Ca(OH)2			
Chaparro 2009	8,2	10:100	ambiente	24h	entero		H2O+1,1%NaCl			
Chaparro 2009	neutro	10:100	ambiente	24h	entero		H2O destilada	Cocción	100ºC	1h
Chaparro 2009					entero			tostado	120ºC	15min
Chaparro 2009					entero			tostado	120ºC	30min
Chaparro 2009					entero			tostado	120ºC	1h
Ferreira 2000	neutro		ambiente	24h			H2O	Tostado	130ºC	30min
Ruiz *et al* 2009	alcalino	1:4	ambiente	24h	quebrado		H2O+4%Ca(OH)2			
Ruiz *et al* 2009	neutro	1:4	ambiente	24h	quebrado		H2O			

1.4.4.Técnicas para el control de calidad al tratamiento térmico

1.4.4.1. Índice de ureasa

La ureasa es una proteína de la semilla común en muchas leguminosas; en el guandul (Cajanus cajan) ha sido detectada y purificada por electroforesis. (Balasubramanian y Pomuraj, 2008). Annet, en 1914, evaluó muchas semillas de plantas encontrando que esta enzima está presente en la mayoría de las papilionáceas, pero no en las gramíneas; así mismo ha sido ampliamente hallada en diversos hongos y bacterias. El método empleado por Annet 1914 indicó ausencia de ureasa para varios granos de leguminosas, entre ellos la mucuna.

La determinación del índice de ureasa es una técnica empleada en los laboratorios de calidad para evaluar de manera indirecta la presencia de inhibidores de tripsina mediante la medición de la actividad de la ureasa presente en la soya. Es útil para detectar sí los productos de la soya fueron tratados de manera insuficiente, pero es limitado para evaluar el sobre proceso y su efecto sobre la calidad in vitro de la proteína. El principio en el laboratorio consiste en colocar de forma simultánea la muestra a analizar acompañada de una solución tampón de fostato y urea y una muestra blanco que contiene con los mismos reactivos anteriores sin la urea. La ureasa existente en las muestras al reaccionar con la urea libera NH3 y CO2; el NH3 se estima mediante la medición del pH de ambas soluciones; el valor de pH de la muestra blanco se establece como referencia o base. El de la solución con la muestra sin urea se expresa como un delta o incremento. En la medida que haya mayor liberación de NH3 es más alto el delta de pH porque el NH3 es básico y en, consecuencia, se considera de manera indirecta que si la ureasa no se inactivó tampoco lo fueron los inhibidores de tripsina pues ambos pertenecen al grupo de las proteínas y los péptidos. En Colombia existe la NTC 771 del 2000, conocida como determinación de la actividad de la ureasa, basada en AOCS (Tentative method Ba 9-58. 1987), aplicable al frijol soya y sus subproductos, como indicadora del procesamiento al que fue sometido el frijol soya y sus subproductos.

Para este indicador existen valores de referencia normativos aplicados al grano y a algunos productos derivados de ella. En granos crudos los valores del delta de pH son superiores a 0,8, en subprocesos éstos oscilan entre 0,5 y 0,8, en tanto que en sobrecalentamiento el delta de pH puede ser inferior a 0,05. El valor para un procesamiento óptimo se considera que se encuentra entre 0,08 y 0,3 (Dudley-Cash, sf; Machado, 1997). Asociada a la NTC 771 existen otras dos orientadas a la regulación de los valores máximos permitidos de la actividad ureásica: la 3716 de 2002 (Alimentos para animales. Soya integral) y la 3682 de 2006 (Alimento para animales. Torta de soya). Ambas señalan que la actividad ureásica máxima en este tipo de alimentos, expresada como delta de pH, debe ser 0,15.

1.4.4.2. Solubilidad de la proteína en KOH

La solubilidad de la proteína en KOH al 0,2% es otro indicador de control de calidad aplicable a las harinas o tortas proteicas vegetales, principalmente de soya. En teoría este indicador está orientado a establecer sí el recurso alimenticio fue sobre procesado. Se ha postulado que en los granos crudos el valor de la solubilidad podría ser cercano a 100% y debería disminuir en la medida en que el grano se somete a procesamiento térmico. Valores inferiores a 75% son indicativos de sobrecalentamiento en tanto que cuando superan el 85% corresponden a granos y productos de soya sub procesados. Sí éstos son superiores a 90% se estaría hablando de muestras crudas o de proteínas que no sufrieron desnaturalización. De igual forma se ha señalado que el procesamiento es óptimo cuando este indicador varía entre 75% y 85% (Machado, 1997). Las Normas Técnicas Colombianas referenciadas para el índice de ureasa establecen que la soya integral y la torta de soya deberían tener como mínimo 75% de proteína soluble en KOH al 0,2%, pero ellas no señalan intervalos de valores y menos que con estos se puedan generar calificativos como los sugeridos por Machado (1997).

1.5. Calidad Biológica de las Proteínas

El valor nutritivo de una proteína, se define como la capacidad de ésta o de una mezcla de ellas para cubrir los requerimientos de nitrógeno y de aminoácidos esenciales de un individuo; (Pellet y Young 1980 citado por Parra y Tobón 1990) y depende fundamentalmente de la composición, el equilibrio y biodisponibilidad de los de aminoácidos que la componen ; (Pérez y Zamora citados por Olza, Porres, Urbano, Martínez de Victoria y Gil, 2008) ; así cuanto mayor sea la proporción de aminoácidos esenciales, mayor es el valor biológico o calidad. La distribución de un aminoácido específico dentro de esta relación es también de vital importancia; las proteínas que son deficientes en uno o más aminoácidos son de mala calidad. (Mendel 1996).

La evaluación de la calidad de las proteínas constituye un factor esencial para determinar el valor nutricional de un alimento y es normalmente el producto de lo simple a lo más complejo: La evaluación se inicia con el nitrógeno y el análisis de aminoácidos, se mueve a través de una serie de mediciones químicas específicas, y termina con las pruebas biológicas. (The United Nations University 1980).

Las pruebas que tienen como finalidad evaluar la calidad de la proteína de un alimento en organismos animales, van dirigidas a establecer la relación entre el consumo de proteína y los cambios que esta induce. (Pellet y Young, 1980, citados por Parra y Tobón 1990).

La evaluación de la calidad de las proteínas constituye un factor esencial para determinar su valor nutricional y comercial. Con este fin se han elaborado y utilizado diversas técnicas de ensayo que se basan sobre todo en la medición de la eficacia de la proteína para estimular el crecimiento de los animales.

Existen varias escalas de medición y técnicas que se utilizan para evaluar la calidad de las proteínas.

Métodos Directos:

- Biológicos
- Microbiológicos
- Químicos

Métodos Indirectos:

- Parámetros Bioquímicos

La necesidad de contar con técnicas uniformes para los datos relativos al valor biológico, es importante; por consiguiente, el Grupo Consultivo FAO/OMS/UNICEF sobre Proteínas ha organizado un estudio conjunto sobre evaluación de las proteínas con la finalidad de proponer procedimientos uniformes de ensayos para determinar los valores biológicos de las proteínas en los alimentos y en las mezclas de alimentos. Estos métodos biológicos directos para la evaluación de la calidad de las proteínas, involucran el empleo de animales y la determinación de algunos índices; se pueden dividir en aquellos que se basan en el cambio en el peso corporal y los basados en la retención de nitrógeno.

Métodos basados en el cambio en el peso corporal: emplean los siguientes indicadores:

- PER -> Protein Efficiency Ratio -> Índice o Razón de Eficiencia Proteica
- NPR ->Net Protein Ratio -> Razón Neta de Proteína

Métodos basados en la retención y balance de nitrógeno usan estos indicadores:

- NB -> Nitrogen balance - > Balance Nitrogenado
- BV -> Biological value -> Valor Biológico
- NPU -> Net Protein Utilization -> Utilización Neta de la Proteína.

(FAO CORPORATE 1970/OMS)

1.5.1. Razón o Índice de Eficiencia Proteica = Protein Efficiency Ratio (PER)

El método más simple para determinar el valor nutritivo de una proteína, es medir la tasa de crecimiento de animales jóvenes alimentados con una dieta de prueba; el índice obtenido se denomina Razón de Eficiencia Proteica (PER); basado en el método de Bender y Doell, 1957 este indicador determina la eficacia de una proteína basado en los cambios en el peso corporal; ha sido definido por (FAO CORPORATE 1970/OMS) como “peso ganado por peso de proteína consumida” matemáticamente es un cociente: Ganancia de peso corporal dividida por el peso de la proteína consumida

El índice o razón de eficiencia proteica PER, es un método de evaluación biológica, generalmente realizado en ratas y ocasionalmente en pollos. (Machado 1997).
Generalmente un valor de PER Inferior a 1.5 describe una proteína de baja calidad; entre1.5 and 2.0, describe calidad intermedia y superior a 2.0, buena o alta calidad; El valor PER obtenido se compara con el de una proteína de referencia, como la caseína, que en la práctica se asume posee un valor de 2,50. A pesar de ser un método muy empleado (960.48 y 982.30 OAC) su aplicación presenta las siguientes fallas:

- El PER no valora apropiadamente las proteínas utilizadas para el mantenimiento (Una fuente proteica puede no soportar el crecimiento al tener un PER cercano a cero; pero aun así puede ser adecuada para los propósitos de mantenimiento; una proteína que es de alta calidad para un fin puede no serlo para otro; en consecuencia los valores no son proporcionales, es decir, un valor PER de 2 no es dos veces tan bueno como un valor PER de 1).
- Los factores que influyen en la ingesta total de alimentos aumentan la variabilidad de las estimaciones de PER y reducen de la capacidad del PER para discriminar entre proteínas.
- El PER varía con el nivel de proteína en la dieta. el nivel convencional es 9.09 - 10 %.
- El ensayo no es siempre reproducible en diferentes laboratorios.
- Los intentos de eliminar la variación de laboratorio mediante la corrección de un valor presupuesto de 2,5 de la caseína (patrón interno), no siempre tiene éxito

El indicador se calcula aplicando la siguiente relación:

PER = Aumento de peso vivo (g) / Proteína consumida (g)

1.5.2. Razón Neta de Proteínas (NPR). Net Protein Retention

El índice o relación neta de la proteína (NPR), también utiliza la rata como animal de experimentación. Está basado en el método de Bender and Doell, The United Nations University, 1980; La FAO/OMS lo define como "el peso ganado por un grupo de animales en prueba más el peso perdido de un grupo control por gramo de proteína consumida" lo que es una mejora al PER. (Bender and Doell, 1957).
Matemáticamente se expresa así:

NPR = Aumento de peso animales con dieta prueba +perdida peso animales dieta libre N

Proteína consumida

1.5.3.Utilización Neta de la Proteína (NPU) Net Protein Utilization

Este método mide la diferencia en el contenido de nitrógeno de la canal entre los animales experimentales a los que se les suministra la proteína a evaluar y aquellos a los que se les suministra una dieta sin proteína.

Es la proporción del nitrógeno consumido que es retenido.

Es la relación entre el nitrógeno retenido y el consumido; está basado en el método de Bender, Miller 1953; matemáticamente está dado por:

$$NPU = \frac{\text{Nitrógeno corporal en pollos dieta prueba} - \text{Nitrógeno corporal en pollos dieta libre N}}{\text{Nitrógeno consumido}} \times 100$$

Considerando que el aprovechamiento real de las proteínas depende tanto de su digestibilidad como de su valor biológico, se han integrado estos dos valores en la NPU; en la que se determina la proporción de nitrógeno consumido que es retenido, mediante la siguiente ecuación: (Machado 1997). Se denomina NPU calculado cuando es obtenido a partir de los valores determinados de valor biológico y la digestibilidad acorde a la siguiente formula:

$$\text{NPU “calculado”} = VB \times D$$

Dónde:

NPU: Utilización neta de la proteína

VB: Valor biológico

D: Digestibilidad.

1.5.4. Valor Biológico: VB Biological Value. (BV)

Es una prueba de balance nitrogenado que mide el porcentaje de proteína ingerida que realmente es usada por el animal; el valor biológico es la proporción del nitrógeno absorbido que se retiene para mantenimiento y crecimiento. El valor biológico es un método ampliamente utilizado para la evaluación de la calidad proteica. (Mitchell 1924) .Está basado en el método desarrollado por K, Thomas modificado posteriormente por H.H. Mitchell y que es conocido como el método de Thomas-Mitchell. (Machado 1997). Definido por la FAO/OMS 1965: como “proporción de nitrógeno absorbido que se retiene para mantenimiento y crecimiento” está matemáticamente dado por:

$$VB = [N\ retenido \times 100 / N\ absorbido]*100$$

$$VB = [NI - (NF-Nfe) - (UN - Nue) / NI - (NF - NFe)]*100$$

Dónde:

VB: Valor biológico

NI: Nitrógeno ingerido

NF Nitrógeno fecal total

NFe: Nitrógeno fecal endógeno

NU: Nitrógeno urinario

NUe: Nitrógeno urinario endógeno.

1.5.5.Digestibilidad = Digestibility (D)

La proporción de nitrógeno que es absorbido (FAO, 1965):

$$\frac{I-(F-Fk)}{I}$$

Donde
I = Nitrógeno Consumido
F = Nitrógeno Fecal del grupo de la dieta a evaluar
Fk= Nitrógeno Fecal del grupo de la dieta libre de nitrógeno

A continuación se presenta un compendio de las diferentes condiciones experimentales puesta a prueba por diversos investigadores para la evaluación de la calidad biológica de la proteína de múltiples recursos alimenticios.

Se debe considerar en estas metodologías con pruebas biológicas para la determinación de la calidad de la proteína de los alimentos, que otros factores ajenos a la proteína y su composición como el equilibrio y disponibilidad de aminoácidos afectan los resultados; siendo el nivel de minerales, vitaminas pero sobre todo el nivel energético de la dieta y la relación energía/proteína de la misma, los de mayor sensibilidad dada la íntima relación entre estos y el consumo de alimento que está directamente involucrado con los términos de las ecuaciones que permiten obtener los diferentes indicadores de la calidad biológica de proteínas. (Chalupa y Fisher 1963); (Summers y Fisher 1961). Al respecto la OMS establece una distinción entre la calidad de la proteína que es un atributo de la proteína por sí misma y la eficiencia de utilización de la proteína, que depende tanto de su calidad como de las condiciones en que se consume; así como del nivel de consumo de calorías y del nivel de proteína de la dieta. (Parra y Tobón 1990). Sobre este asunto, Mendel (1996) , asegura en su trabajo que el valor nutricional o calidad de las proteínas varía y se rige además de la composición y proporción de sus aminoácidos esenciales por su susceptibilidad a la hidrólisis durante la digestión, el origen o fuente de los mismos, el efecto de los tratamientos y la relación energía: proteína, considera que es necesario entonces una mayor comprensión de los distintos factores que influyen sobre la utilización

biológica de la proteína y por ende sobre su calidad o valor nutritivo. Este criterio esta soportado también por Magee y Dally, (1987) citados por Mendel Friedman (1996) cuando firman que antes de que una proteína pueda servir como una fuente dietaria de aminoácidos, debe ser digerida; así, cualquier factor que altere la digestibilidad, a su vez afecta el valor nutritivo o calidad de la proteína. La digestibilidad y disponibilidad de los aminoácidos no son sinónimos; por el contrario, la digestibilidad es la propensión de los enlaces peptídicos a la hidrólisis, mientras que la disponibilidad se refiere a la integridad química de los aminoácidos, es decir, su resistencia al tratamiento por calor, pH, oxidación, entre otros. Estos tratamientos pueden limitar tanto la disponibilidad y la digestibilidad, especialmente de la lisina, metionina, treonina y triptófano. Ambos parámetros deben considerarse al definir el valor nutritivo de las proteínas. Otra consideración importante es que las proteínas rara vez se consumen como el único elemento dentro de la dieta, esto implica que el nivel de fibra, de antinutricionales y otros interfieren y afectan su calidad.

Tabla 7. Condiciones experimentales para determinación de PER - PNR

Condiciones experimentales para la evaluación de la calidad biológica de la proteína				
Autores	Condiciones experimentales			
	Animales	Edad inicial	Duración	% PC
Posada	48	8	7	13
Parra y Tobón	60	6	9	13
Jaramillo y Aguirre	80	6	9	13
Salinas y Pulgarin	9		10	13
Hassan *et al.*	300	8	9	10
Treviño *et al.*	60	8	9	9
Emmert y Baker		8	12	10
Aimiuwu y Libuurn		7	7	12,15,18
Parsons Castanon y Han		7	9	9
Wang y Pearson		8	10	15
Johnson y Parson		8	6	10
Kwakernaak y Van der Klis		7	10	9

1.5.6.Calidad biológica de la proteína en guandul y mucuna

La valoración nutricional de los granos de Guandul (*Cajanus cajan*) y de las especies de *Mucuna*, frijol terciopelo y vitabosa, en términos de evaluaciones de calidad biológica de la proteína ha sido desarrollada usando como modelo animal ratas; diversos trabajos coinciden en que los granos sometidos a tratamientos térmicos muestran mejores valores de los indicadores de calidad; así Vadivel y Pugalenthi (2007), encontraron que los valores de los indicadores de calidad de las semillas de *Mucuna pruriens* tratadas en autoclave, superaron los mismos indicadores en los granos crudos, como se indica a continuación:

PER (2.67 ± 0.30; Autoclave; 1.87 ± 0.24 Crudo)

DV (78.50 ± 0.12; Autoclave; 67.70 ± 0.32 Crudo)

VB (73.60^{e} ± 0.31; Autoclave; 61.50^{a} ± 0.23Crudo)

NPU (54.70^{e} ± 0.21; Autoclave; 40.20^{a} ± 0.15 Crudo)

En su trabajo Singh (1993), con granos de Guandul (*Cajanus cajan*), en los que comparó la calidad biológica de la proteína de variedades de esta semilla con alta y baja concentración de polifenoles, crudas y sometidas a diferentes procesos térmicos, con y sin decorticar, usando como modelo animal ratas, encontró que los parámetros de calidad de la proteína de los granos con menor concentración de estas sustancias tóxicas, sometidas a proceso térmico, fueron significativamente superiores:

DV: (84,0 Cocido, bajos polifenoles; 78,8 Cocido, altos polifenoles)

VB: (63,7 Cocido, bajos polifenoles; 58,4 Cocido, altos polifenoles)

NPU: (53,6 Cocido, bajos polifenoles; 46,0 Cocido, altos polifenoles)

Por su parte, Li et al., (1982), compararon diferentes tratamientos térmicos y tiempos de cocción de semillas de *Cajanus cajan* para evaluar la calidad de su proteína en ratas, encontrando que 60 minutos a presión atmosférica ambiental obtenía un PER de 1,56 en tanto que la cocción de estos granos durante 25 minutos en autoclave arroja un valor de PER de 0,96.

Otro bioensayo que ratifica la utilidad del proceso térmico en granos de leguminosas, fue el realizado por Shah (1991), usando como modelo animal ratas, en el que comparó la calidad de la proteína en semillas crudas y cocidas de Guandul (*Cajanus cajan)* obteniendo valores de PER de 0,69 y 1,56 respectivamente.

2. Objetivos

General

- Evaluar el efecto de dos procesos térmicos sobre la calidad de la proteína de los granos de Guandul (Cajanus sp) y Vitabosa (Mucuna sp).

Específicos

- Evaluar el efecto de la cocción sobre la calidad biológica de la proteína en granos de Guandul (*Cajanus sp) y* Vitabosa (*Mucuna sp*) determinado en pollos de engorde.
- Evaluar el efecto del tostado sobre la calidad biológica de la proteína en granos de Guandul (*Cajanus sp) y* Vitabosa (*Mucuna sp*) determinado en pollos de engorde.
- Fraccionar la proteína de granos de Guandul (Cajanus sp) y de Vitabosa (Mucuna sp) crudos y desengrasados por su solubilidad en diferentes solventes.

3. Hipótesis

De acuerdo con los registros de la literatura, con la aplicación de procesos a los granos de leguminosas se esperan cambios en la calidad de la proteína debido a la inactivación de los metabolitos secundarios y al mejoramiento de la digestibilidad de la proteína.

4. Materiales y Métodos

4.1. Instalaciones.

El experimento se llevó a cabo en la estación agraria San Pablo, granja experimental de la Universidad Nacional de Colombia, ubicada en Rionegro Antioquia. Los pollos estuvieron alojados en el galpón de levante acondicionado para garantizar temperatura, humedad y luminosidad acordes con las necesidades de las aves.

4.2. Materiales.

4.2.1. Granos.

Guandul (*Cajanus cajan*): Los granos maduros y seleccionados de esta leguminosa se obtuvieron en la zona de la costa Atlántica Colombiana de un proveedor comercial.

Frijol vitabosa (*Mucuna sp*): Proveniente del cultivar de la granja experimental de la Fundación Aurelio Llano Posada ubicada en el municipio de Quimbaya, departamento de Quindío Colombia.

4.2.2. Aves.

Para el estudio se utilizaron 135 pollos machos de la línea Ross*Ross, vacunados el primer día de vida en la incubadora con el esquema comercial que incluye: Mareck-Gumboro-New Castle–Bronquitis.

4.2.3.Equipos.

Para la recepción y crianza de los pollos durante la primera semana de vida se utilizó el equipo y los materiales que dispone la estación: cama de viruta, redondeles plásticos, criadoras eléctricas, calefacción a gas, comederos de bandeja y bebederos tipo bebe. En la fase experimental los pollos se alojaron en tres baterías metálicas de cinco pisos cada una, provistas de comedero, bebedero de tolva lineal y bandejas para las excretas. Cada piso contaba con dispositivo de luz eléctrica para la iluminación y fuente de calor.

4.3. Métodos.

4.3.1. Métodos de tratamiento térmico aplicados a los granos.

Ambos granos fueron sometidos a proceso de limpieza y selección; posteriormente se formaron tres baches de cada grano y se destinaron a los tratamientos propuestos: crudo o sin tratamiento alguno, cocción y tostado. Los procedimientos se aplicaron de acuerdo con la sensibilidad registrada en la literatura de los factores antinutricionales a la solubilidad y a la temperatura. De esta manera el grano de guandul se sometió a la cocción y al tostado, mientras que el de la vitabosa se sometió a remojo previa la aplicación de la cocción o el tostado. Los procesos aplicados se describen a continuación:

Hidratación.

Durante 24 horas se mantuvieron en remojo 14 kg de grano de vitabosa en 70 L de agua potable (relación Peso:Volumen de agua de 1 kg de grano:5 L de agua) a temperatura del Laboratorio de Análisis Químico y Bromatológico de la Universidad Nacional de Colombia; luego se descartó el agua residual y los granos se secaron durante 52 horas en estufa de ventilación forzada a 60ºC. No se realizó análisis químico alguno al agua residual procedente del proceso de remojo.

La diferencia en el proceso previo de remojo entre ambos granos se debió a que por información de la literatura se identificó que los granos de mucuna contenían metabolitos secundarios que eran solubles en agua.

Los tratamientos posteriores, cocción y tostado, fueron similares para ambos tipos de granos.

Cocción.

Se realizó en el Laboratorio de Productos lácteos de la Universidad Nacional de Colombia, bajo las siguientes condiciones:

Equipo: Marmita de doble camisa a vapor
Relación P:V 1:10
Temperatura: Ebullición 202ºF (94,4ºC)
Tiempo: 40 minutos

Por ser un sistema abierto a la programación de agua se adicionó 15% con el fin de compensar las pérdidas por evaporación. Los granos solo se depositaron en la marmita una vez se inició la ebullición. A los 40 minutos de cocción los granos se sacaron y se llevaron a estufa de ventilación forzada a 60°C por 48 horas en el Laboratorio de Análisis Químico y Bromatológico.

Tostado.

Se realizó en el Laboratorio de calidad de alimentos de la Universidad Nacional de Colombia.

Equipo: Horno automático a gas (Thermolab, Modelo DIES).

Temperatura: 110ºC

Tiempo: 30 minutos, una vez se alcanzó la temperatura meta.

Luego de 30 minutos de tostado los granos se enfriaron a temperatura ambiente.

4.3.2. Dietas experimentales.

Para el estudio se prepararon nueve dietas.

T1. Dieta libre de nitrógeno (DLN)
T2. Dieta con caseína o de referencia (CA)
T3. Dieta de referencia con torta de soya (TS)
T4. Dieta con inclusión de grano de guandul crudo (GC)
T5. Dieta con inclusión de grano de guandul cocido (GCO)
T6. Dieta con inclusión de grano de guandul tostado (GT)
T7. Dieta con grano de mucuna cruda (MC)
T8. Dieta con grano de mucuna cocida (MCO)
T9. Dieta con grano de mucuna tostada (MT)

La DLN solo se utilizó para calcular el nitrógeno endógeno. En los estudios de evaluación de la calidad biológica de la proteína se emplea este tipo de dietas con este objetivo, no pretende ser útil para realizar comparaciones en las variables de respuesta entre ella y las otras dietas experimentales. En este estudio se incluyó la dieta de referencia con caseína

(CA) porque se considera que, no obstante no se utiliza en la formulación de dietas para pollos, la caseína es una proteína de elevado valor biológico, lo que la convierte en un alimento de referencia para establecer comparaciones con las fuentes de proteína que se están evaluando. La dieta con torta de soya (TS) se usó como dieta de referencia porque este alimento es la principal fuente de proteína utilizada en las dietas comerciales para pollos de engorde en los últimos 70 años.

De acuerdo con la metodología que existe en los estudios de calidad biológica de la proteína las dietas experimentales que aportaron proteína fueron formuladas atendiendo los aportes de minerales, vitaminas, pared celular y grasa, pero ajustadas al 10% de proteína cruda; este nivel se basa en la premisa señalada por diversos investigadores según la cual la utilización de la proteína decrece cuando se incrementa su nivel en la dieta (Platt y Miller, citados por Summer *et al*, 1964). Las tablas 8 y 9 registran la composición centesimal y nutricional de las dietas experimentales.

Tabla 8. Composición centesimal de las dietas utilizadas en el estudio (Valores expresados en porcentaje).

Ingrediente	Dietas								
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9
Almidón de maíz	57	49	43	25	27	22	32	34	34
Maltodextrina	24	19	17	7	8	6	11	12	12
Glucosa	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Aceite	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Celulosa	4	4	2,87	0	0	0	1,09	0,64	0,8
Caseína	0	12,7	0	0	0	0	0	0	0
Cajanus Sp	0	0	0	53,33	50	57,14	0	0	0
Mucuna Sp	0	0	0	0	0	0	41,03	39,02	39,02
Torta de soya	0	0	22,62	0	0	0	0	0	0
Premezcla Vitam-Min	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
Fosfato monobicálcico	2,14	2,14	1,95	2,04	1,94	1,91	1,93	1,94	1,94
CaCO3	1,79	1,79	1,71	1,71	1,73	1,74	1,78	1,76	1,78
Cloruro de sodio	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
Totales	99,63	99,33	99,85	99,79	99,38	99,5	99,52	100,07	100,25

Composición de la premezcla vitamínica y mineral: Niacina 30,00 g; vitamina K 3,00 g; vitamina B_{12} 20,00 mg; tiamina (B_1) 2,00 g; piridoxina (B_6) 3,00 g; ácido fólico 1,00 g; biotina 150,00 mg; vitamina A 10000000,00 UI; vitamina D 3000000,00 UI; vitamina E 60000,00 UI; riboflavina (vitamina B_2) 6,00 g; Cu 10,00 g; Fe 50,00 g; Zn 70,00 g ; Mn 75,00 g; antioxidante B.H.T 50,00 g; I 1,00 g; Se 0,30 g; cloruro de colina 300,00 g; virginiamicina 12,50 g; excipiente C.S.D. 4000 g; pantotenato de Ca 10,00 g; narasina 40,00 g; nicarbazina 40,00 g.

Tabla 9. Composición nutricional de las dietas experimentales (Valores expresados con base en la materia seca)[1]

Análisis	Dietas								
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9
Humedad y otras materias volátiles	10,30	10,40	10,60	10,90	7,60	10,10	9,90	8,80	8,90
Nitrógeno	0,10	1,70	2,10	1,90	1,70	2,10	2,10	1,80	1,70
Proteína cruda (N*6,25)	0,63	10,63	13,13	11,88	10,63	13,13	13,13	11,25	10,63
Contenido de grasa	6,17	8,49	5,81	6,73	7,38	6,75	8,21	5,89	8,12
Fibra cruda	3,40	3,40	2,60	5,10	4,70	6,00	3,80	4,20	3,90
Cenizas	1,50	1,61	2,46	3,29	2,22	3,45	2,66	2,18	2,76
Calcio	0,26	0,18	0,22	0,30	0,22	0,25	0,29	0,24	0,28
Fósforo total	0,07	0,14	0,21	0,23	0,18	0,23	0,27	0,23	0,26
Valor calorífico bruto (cal/kg)	4363	4645	4479	4459	4693	4540	4631	4631	4621

[1] Con excepción del valor calorífico bruto todos los valores están expresados en porcentaje.

Las dietas fueron elaboradas en el Laboratorio de Concentrados de la Estación Agraria San Pablo de la Universidad Nacional de Colombia. El almidón de maíz, la maltodextrina, glucosa, celulosa, caseína, premezcla de minerales y vitaminas, la fuente de Ca y P, el NaCl y los aminoácidos se incorporaron a las dietas como fueron entregados por los proveedores. El aceite se adicionó manualmente. La torta de soya y los granos de leguminosas fueron molidos en el molino de preparación de muestras del Laboratorio de Análisis Químico y Bromatológico. Para el mezclado de los ingredientes se utilizó una micro mezcladora mecánica de paletas. El tiempo de mezclado fue de 5 minutos. Todas las dietas fueron suministradas en forma de harina. Una vez preparadas las dietas se pesaron las cantidades correspondientes a la oferta de cada día para cada tratamiento y se empacaron en bolsas plásticas con cierre hermético debidamente rotuladas. Se tomó una muestra de 100 gramos de cada uno de los tratamientos para las determinaciones químicas.

El día previo al inicio de la etapa experimental los pollos se sometieron a ayuno de 12 horas, pero se mantuvo la oferta de agua. El día 8 se pesaron individualmente (Peso 1) y se distribuyeron al azar en los tratamientos. Las dietas se ofrecieron diariamente en la mañana durante 10 días según los consumos esperados por tabla de la línea Ross*Ross consignando la cantidad ofrecida y el rechazo para estimar por diferencia el consumo.

En los últimos tres días del período experimental se concentró la recolección total de excretas. Las excretas de cada día correspondientes a cada repetición se pesaron, se eliminaron plumas, residuos de alimento y demás agentes extraños, se identificaron y congelaron hasta tanto se realizaron los análisis de laboratorio. Las excretas recolectadas fueron congeladas hasta su preparación para su secado en estufa de ventilación forzada a 60ªC. Posteriormente se molieron y una muestra representativa se destinó a los análisis químicos correspondientes.

El día anterior a la finalización del experimento los pollos se ayunaron durante 12 horas y se pesaron por repetición para obtener el Peso 2 o final.

4.3.3.Determinaciones químicas.

Todos los análisis químicos se realizaron en el Laboratorio de Análisis Químico y Bromatológico previa molienda de las muestras en malla número 1.

4.3.3.1. Para los granos.

Una vez se limpiaron y seleccionaron los granos se sometieron a los procesos asignados. Se destinó una muestra de cada grano crudo, cocido y tostado se orientó a los análisis químicos de caracterización previa molienda en molino con tamaño de criba número 1. La harina obtenida se almacenó en bolsas plásticas con cierre hermético a temperatura de 25°C. El material no utilizado en los análisis de laboratorio fue incorporado en los tratamientos propuestos. En el laboratorio se realizaron las siguientes determinaciones:

- Humedad y otras materias volátiles (Hd): Método Termogravimétrico a 105°C más o menos 2°C (ISO-6496)
- Nitrógeno y cálculo del contenido de proteína cruda (PC): Método Kjeldahl (NTC-4657).
- Contenido de grasa (GB): Método de extracción (NTC-668).
- Fibra cruda (FC). Método del crisol de disco cocido (AOAC 978.10).
- Almidón nativo (ALM): Método polarimétrico de Ewers (ISO 10520).
- Cenizas (CEN): Método de incineración directa a 60°C (AOAC 942.05).
- Ca: Método de espectrometría de absorción atómica (NTC 5151).
- P: Método espectrofotométrico UV-VIS (NTC 4981).
- Proteína soluble en KOH al 0,2%: Método de solubilidad en KOH (NTC 3682)

- Índice de ureasa: Método de potenciometría (NTC 771)

Las dos últimos determinaciones se introdujeron como criterios de control de calidad de procesos. Debe advertirse que el ambiente de su aplicación es de uso exclusivo para los granos y productos de la soya el cual no solo dispone de procedimientos estandarizados sino de regulación que permiten comparar los valores obtenidos en las determinaciones de laboratorio con los establecidos en las normas. En Colombia las normas que existen relacionadas con este tema son: NTC 771 (2000-08-30) referida al fríjol soya y sus subproductos, la NTC 3682 (2006-08-30) para la torta de soya y la NTC 3716 (2002-11-27) para la soya integral.

4.3.3.1.1. Fraccionamiento de las proteínas de los granos.

Para la determinación de las fracciones proteicas de los granos se empleó el método descrito por Sauvaire *et al* (1984), citados por Adebowale *et al* (2007) el cual se basa en el método de Osborne de clasificación de las fracciones proteicas de acuerdo con el criterio de solubilidad.

Para la obtención de las diferentes fracciones proteicas se realizaron extracciones secuenciales, suspendiendo 5 g de la muestra molida y desengrasada en diferentes solventes en una relación de 1:20 (Peso:Volumen), durante una hora en una plancha de agitación magnética constante en nivel 4, sin introducir calentamiento (Heating Magnetic Stirrer). La secuencia de solventes empleada fue: Agua (Albúmina +globulina), NaCl 1,0 molar (Globulinas), etanol:agua en una relación en volumen 70ml/100ml (Prolamina) y NaOH 0,1 molar (Glutelina).

Después de cada extracción la suspensión se centrifugó por 20 minutos en una centrífuga Rotina 35 Hettich Zantrifugen a 6030 rpm que equivale a 5000 g. Concluida la centrifugación se filtró el sobrenadante en papel de filtro Whatman N° 4. El residuo generado en cada paso se sometió a una nueva extracción. Los filtrados con las fracciones proteicas y el residuo final se analizaron por el método Kjeldahl obteniendo el porcentaje de proteína cruda de cada fracción y del residuo relacionándolo con el de la proteína total de la muestra desengrasa de cada grano.

4.3.3.2. Dietas.

Excepto la proteína insoluble en KOH y el índice de ureasa a las dietas experimentales se le determinaron los mismos análisis que se aplicaron a los granos de leguminosas más el valor calorífico bruto en bomba calorimétrica según la norma ISO 9831.

4.3.3.3. Excretas.

Para los análisis de laboratorio las excretas recolectadas de cada día correspondientes a cada repetición se descongelaron y dejaron a la temperatura del laboratorio para luego determinar el contenido de humedad y de nitrógeno de acuerdo con los métodos descritos en el numeral 4.3.3.1.

4.3.4. Evaluación biológica de la calidad de la proteína.

La evaluación de la calidad de la proteína de granos de guandul y vitabosa se determinó en un ensayo mediante los siguientes indicadores:

- PER: Protein Efficiency Ratio o Razón de Eficiencia Proteica. Basado en el método de Osborne (1919) y Osborne, Mendel y Ferry (1957).
- NPR: Net Protein Ratio o Razón Neta de Proteína. Basado en el método de Bender y Doell (1957).
- Digestibilidad aparente y corregida del nitrógeno. Basado en el método de Mitchell 1925.
- Balance aparente y corregido de nitrógeno.

5. Análisis Estadísticos.

El experimento se condujo en un delineamiento enteramente al azar, con nueve tratamientos, cinco repeticiones por tratamiento y tres pollos por repetición.

La Dieta Libre de Nitrógeno (DLN) se utilizó para estimar los valores de digestibilidad corregida del Nitrógeno, el balance corregido de Nitrógeno y el NPR.

Por tratarse de dos granos diferentes en momento alguno se compararon las variables de respuesta entre ellos y las interacciones entre el grano y el efecto del procesamiento (crudo, cocido, tostado).

Las variables de respuesta generadas se analizaron utilizando el procedimiento GLM y los valores promedio se compararon, cuando procedía, mediante la prueba Duncan.

Al peso al inicio al período experimental (Peso 1) también se le realizó análisis de varianza mediante el procedimiento GLM como una manera de identificar sí la asignación de los pollos a los tratamientos tuvo un comportamiento debido al azar.

El peso al inicio del período experimental (Peso 1) y el peso al final (Peso 2) se analizaron mediante un modelo de regresión lineal con el fin de establecer sí el Peso 2 (variable dependiente) estuvo afectado por el peso al inicio (variable independiente).

Todos los análisis estadísticos se realizaron en el programa SAS (SAS Inst... Inc., Cary, NC Versión 9).

6. Resultados y discusión

Con el fin de orientar el análisis de este capítulo se procederá a presentar y analizar en la primera parte los resultados que abarcan a ambos grupos de granos y a continuación se registrarán los resultados específicos para guandul y luego para mucuna.

6.1. Resultados generales para el experimento de Guandul (*Cajanus cajan*) y Vitabosa (*Mucuna sp*)

6.1.1. Composición química del Guandul (*Cajanus cajan*) y la Vitabosa (*Mucuna sp*)

A continuación se presentan los resultados de las determinaciones químicas realizadas en el Laboratorio de Bromatología de la Universidad Nacional de Colombia sede Medellín, para los granos de Guandul y Mucuna:

Tabla 10. Composición química para los granos de guandul y mucuna usados en el experimento (Valores expresados en porcentaje)

	Guandul			Vitabosa		
Análisis	Crudo	Cocido	Tostado	Crudo	Cocido	Tostado
Humedad y otras materias volátiles	13,40	3,30	11,00	9,60	3,50	5,60
Proteína cruda (N*6,25)	18,75	20,00	17,50	24,37	25,60	25,60
Contenido de grasa	1,42	1,18	1,79	3,04	3,00	2,96
Fibra cruda	7,80	8,70	7,80	7,10	8,60	8,20
Cenizas	3,85	3,10	3,95	3,25	3,05	3,55
Calcio	0,08	0,10	0,08	0,08	0,099	0,08
Fósforo	0,13	0,28	0,28	0,36	0,36	0,36

En general la información sobre la composición química de los granos de guandul y mucuna se encuentra en la misma dirección a los registros de los autores consultados (Adebowale *et al*., 2005; Adebowale *et al*., 2007; Chaparro *et al*., 2009; Corzo, *et al*., 2000; Encalada, 2002; Ezeagu, *et al*., 2003; Ferreira, 2000; Flores, 1997; Johnson y

Valentine, 2005; Kadkade *et al*., 1972; Kwaku *et al*., 1999; Ruiz, *et al*. 2009; Vadivel y Janardhanan, 2005, citados por Chaparro, 2009; Siddhuraju, *et al*., 1996; Vadivel y Janardhanan, 2000, citados por Pugalenthi *et al*., 2005; Vadivel y Pugalenthi, 2007; Vadivel y Pugalenthi, 2008; Vivanco, 1998; Shah, 1991; Li, *et a*l., 1981; Li, *et al*., 1982; Nwokolo, 1987; Panigrahi, *et al*., 2007; Singh, *et al*., 1990; Singh *et al* 1977, citados por Shah, 1991; Singh y Eggum, 1984; Singh, 1993, citado por Panigrahi *et al*., 2007).

6.1.2. Parámetros de control de calidad del tratamiento térmico a granos de Guandul y Mucuna

A continuación se presentan los resultados de algunas variables de calidad utilizadas de manera clásica para evaluar procesos térmicos desarrollados para torta de soya aplicados a los granos de guandul y mucuna utilizados en el experimento.

Tabla 11. Parámetros de control de calidad aplicados a los granos crudos y procesados de guandul y mucuna.

Análisis	Guandul			Mucuna		
	Crudo	Cocido	Tostado	Crudo	Cocido	Tostado
Proteína soluble en KOH al 2%	89,40	38,60	81,80	91,30	43,00	53,80
Actividad Ureásica (Delta de pH)	1,97	0,02	1,87	0,01	0,01	0,02

Existe evidencia que la ureasa es una proteína común en granos de leguminosas (Balasubramanian y Pomuraj, 2008; Das y Kayastha, 1998; Das, Kayastha y Malhotra 2005). El tema es que no es fácil la aplicación y la interpretación del índice de ureasa para el tipo de granos utilizados en el experimento. Si este índice se aplicara en mucuna tal cual opera en soya habría que decir de acuerdo con las cifras obtenidas que su comportamiento fue semejante independiente del proceso aplicado. El asunto que habría que colocar en el análisis es que desde 1914 Anneth registró que en este tipo de leguminosa es manifiesta la ausencia de ureasa. Para el guandul sería diferente la interpretación de los resultados. Como se señaló en Colombia la normatividad establece que 0,15 es el valor máximo del índice de ureasa para soya integral y torta de soya. Si ésta se aplicara al grano de guandul habría que indicar que en el grano crudo el índice se comportó como correspondería a un grano sin proceso térmico alguno y la cocción atendería dicho parámetro. Llama la atención el caso del tostado puesto que se esperaba que dicho proceso produjera valores indicadores de eficiencia de inactivación de la

ureasa, pero así no ocurrió lo que conduce a sugerir que como no presentó diferencia con el grano crudo el proceso posiblemente no fue eficiente.

Sí a los granos estudiados se aplicara las Normas Técnicas Colombianas NTC 3716 de 2002 y 3682 de 2006 se podría concluir que solo el grano tostado de guandul cumplió el valor mínimo del 75% para la solubilidad de la proteína en KOH. Como estas normas no permiten generar apreciaciones cualitativas, sí se usaran los criterios propuestos por Machado (1997) se podría deducir que los valores de 89,4% para el grano de guandul y 91,3% para la mucuna fueron apropiados para describir los granos crudos. Por su parte los valores registrados en la tabla anterior sugieren que la cocción en el grano de guandul y esta misma junto al tostado aplicados en el grano de mucuna se podrían considerar como tratamientos térmicos que generaron condiciones de sobre proceso bien por el nivel de temperatura aplicado, bien por el tiempo de aplicación o por ambas condiciones.

En el grano de guandul sí se combinan los resultados del índice de ureasa y la proteína soluble se puede observar que el grano crudo y tostado que presentó los mayores índices de ureasa, mensaje que sugiere o que el grano era crudo, como efectivamente sucedió, o el proceso térmico fue insuficiente para inactivar los factores antitripsínicos, también tuvieron los valores más altos de solubilidad de la proteína en KOH. En el grano tostado no obstante que el proceso térmico presumiblemente inhibió estos factores también es cierto que redujo la solubilidad de la proteína. La situación es diferente cuando se analizan los resultados en el grano de mucuna porque mientras la solubilidad de la proteína en el grano crudo es consistente con esta condición el índice de ureasa reflejaría una condición propia para granos sometidos a procesos térmicos.

6.1.3.Fraccionamiento de la proteína de Guandul y Mucuna

En la siguiente tabla se presentan los resultados del fraccionamiento de las proteínas de las granos de guandul y mucuna de acuerdo a su solubilidad en los diferentes solventes:

Tabla 12. Fraccionamiento de la proteína de los granos de Guandul y Mucuna crudos (Valores expresados como porcentaje)

Proteína soluble	Guandul		Mucuna	
	Del grano entero	De la proteína desengrasada	Del grano entero	De la proteína desengrasada
Agua (Albúminas)	4,27	28,55	14,12	55,30
NaCl (Globulinas)	2,99	19,95	3,00	11,76
Etanol (Prolaminas)	0,01	0,09	0,19	0,74

NaOH (Glutelinas)	3,95	26,37	3,00	11,76
Proteína insoluble precipitado	3,75	25,03	5,22	20,45

De la tabla anterior se puede resaltar que la mayor proporción de fracciones proteicas en ambos granos y con respecto a la proteína desengrasada, correspondió a las proteínas solubles en agua, soluciones diluidas de NaCl y NaOH mientras que los niveles bajos estuvieron representados por las proteínas solubles en alcohol. Estos resultados son semejantes a los registrados en la literatura consultada (Barba de la Rosa *et al*., 1992, citados por Búcaro y Bressani, 2002; Duarte – Correa y Carrison, 1986; Nadal, Moreno y Cubero, 2004; Nikokyris, Kandylis, 1997, citados por Gallegos *et al*, 2004).

La mayor proporción de albúminas coincide con lo encontrado por Adebowale *et al* (2007). Los resultados obtenidos muestran que la fracción correspondiente a las globulinas es menor en comparación con algunos registros citados por la literatura. Pande *et al* (1978) y Singh *et al* (1981) citados por Shah (1991), así como Singh y Jambunatan (1982) encontraron que en el grano de guandul las globulinas representan la mayor fracción proteica. Esta divergencia pudo ser debida a que parte de esta fracción se solubilizó en agua durante el fraccionamiento.

Otro elemento sobre el cual merece un llamado de atención tiene que ver con la elevada proporción de la fracción proteica insoluble en el precipitado, la cual en algunos casos llegó a ser superior a los valores de las otras fracciones. Las cifras obtenidas en el procedimiento del laboratorio señalarían que entre un 20 y 25% de la proteína en el grano de guandul y de mucuna no hicieron parte de las fracciones solubles en los diferentes solventes empleados.

6.1.4.Respuesta Animal

Como se indicó en el capítulo anterior se realizó el análisis estadístico para el peso al inicio al período experimental (Peso 1) y también se le realizó análisis de varianza mediante el procedimiento GLM como una manera de identificar sí la asignación de los pollos a los tratamientos tuvo un comportamiento debido al azar. Se podría decir, en consecuencia, que este análisis fue un control que se introdujo al sistema de sorteo de asignación de los pollos a los tratamientos.

La tabla registrada a continuación se registran los estadísticos para la variable peso inicial para todos los tratamientos, en tanto que en el anexo Nº 1 se registra el resultado del procedimiento GLM para esta variable.

Tabla 13. Estadísticos para el peso promedio al inicio del período experimental.

Dieta	Peso inicial promedio (g)	Desviación estándar (g)	CV (%)
T1	415,00	31,90	7,69
T2	413,60	31,13	7,53
T3	419,60	9,07	2,16
T4	418,60	19,86	4,74
T5	419,80	21,53	5,13
T6	435,40	24,28	5,58
T7	421,40	30,67	7,28
T8	418,80	12,11	2,89
T9	430,60	16,15	3,75
GLOBAL	421,42		5,52
GLOBAL		Raíz del MSE=23, 24794	

La información registrada en la tabla anterior indica que la variación en el peso al inicio del ensayo estuvo entre 2,16 y 7,69%, valores que se pueden considerar bajos e indican que el experimento contó con animales homogéneos en esta variable. Por su parte el resultado del análisis de varianza muestra que no fue significativo el modelo de análisis propuesto (P>0,8719), lo anterior implica que todas las unidades experimentales iniciaron el experimento con pesos corporales estadísticamente similares.

También se realizó el análisis de regresión lineal entre el peso al inicio del período experimental (Peso 1) y el peso final (Peso 2) con el fin de establecer sí el Peso 2 (variable dependiente) estuvo afectado por el peso al inicio (variable independiente), de tal modo que sí ésta era significativa se introduciría junto con el efecto de los tratamientos en el modelo de análisis de la varianza del peso final. El resultado de este análisis (Anexo Nº 2) mostró que no fue significativo el efecto del modelo de regresión (P>0.2495), razón por la cual en los análisis de varianza sólo se incluyó el efecto de la dieta (tratamiento).

Para información se registra un resumen de los componentes estadísticos del modelo:

Peso 2 = - 181,09329 + 1,48870 Peso 1. R^2 ajustado = 0,0121. Raíz MSE = 148,99340

6.1.5.Parámetros Zootécnicos

En la siguiente tabla se consignan los valores promedio para el peso al inicio del experimento, peso al finalizar, la ganancia o pérdida de peso durante el período

experimental y el consumo de alimento acumulado durante los 10 días que duró la fase experimental.

Esta información se presenta a modo referencial con el fin de comparar el comportamiento que presentaron los pollos con la guía de manejo de la línea. Es de señalar que cuando en el informe se hace referencia al comportamiento para el grano de guandul se incluyó la DLN, CA, TS y con las tres presentaciones para el grano: GC, GCO y GT.

Para el análisis de estos parámetros zootécnicos tanto en el grano de guandul como de mucuna los valores se consideran como promedio matemático por individuo. Esta estrategia se empleó solo de manera puntual con el fin de poderlos comparar con lo registrado en la guía de manejo de la línea de ave utilizada. Para el resto de análisis el valor promedio de la variable de respuesta corresponde al del tratamiento.

Tabla 14. Valores promedio estimados para algunos parámetros zootécnicos

	Valores promedio estimados por ave (g)			
Dieta	Peso inicial	Peso final	Consumo de dieta	Ganancia acumulada de peso
T1	138,33	108,67	107,67	-29,67
T2	137,67	133,67	141,67	-4,00
T3	139,67	213,67	276,67	74,00
T4	139,33	191,33	329,33	52,00
T5	139,67	214,67	312,67	75,00
T6	145,00	198,33	326,67	53,33

Tanto el peso inicial como el final estuvieron por debajo de lo esperado en la tabla de rendimiento de la guía de manejo de la línea Ross la cual indica que es de 218 g y 660 g. La ganancia de peso para ese período también mostró la misma tendencia al estar por debajo de 442 g que es lo esperado por tabla, así como para el consumo durante la misma etapa que no alcanzó los 632 g sugeridos para la línea genética en el periodo comprendido entre los días 8 y 17 de vida de las aves (Aviagen, 2012).

Este comportamiento es típico en los ensayos de calidad biológica de las proteínas ya que la metodología para estos estudios se caracteriza por suministrar a los animales dietas desbalanceadas (iso-proteicas) muy alejadas de llenar los requerimientos nutricionales necesarios para cumplir con metas de producción, así lo observaron diferentes autores quienes evaluaron la calidad biológicas de las proteínas de granos de granos de

leguminosa y otras fuentes proteicas empleando pollos de engorde como modelo animal. Emmert y Baker (1995) estudiaron diferentes fuentes proteicas de soya reportan consumos de 335,75 g y ganancias de peso de 109,25 g; Dust *et al.,* 2005 hallaron ganancias de peso de 626 g y consumos de 176,6 g en su estudio con materias primas proteicas de origen animal al emplear pollos de engorde como modelo animal para su estudio de calidad biológica.

6.2. Resultados específicos para guandul (*Cajanus sp*)

Los resultados de los análisis estadísticos para el peso final y la ganancia de peso acumulada se presentarán a continuación.

6.2.1.Peso final y ganancia de peso acumulada.

La tabla registra los valores promedio para el peso final y la ganancia de peso acumulada para la parte del experimento correspondiente al grano de guandul. Los respectivos análisis de varianza se registran en los Anexos. Los estadísticos derivados de los análisis de varianza y los valores promedio de ambas variables, acompañados de la respectiva notación generada en la prueba de Duncan, se registran en la misma.

Como se expresó en el capítulo de materiales y métodos la DLN se utilizó para estimar los valores de digestibilidad corregida del Nitrógeno, el balance corregido de Nitrógeno y el NPR; por lo tanto no se hizo uso de su resultado para el análisis de las variables peso final y ganancia de peso acumulada. Este criterio se aplicó tanto para los resultados con guandul como para mucuna.

Para las variables peso final y ganancia de peso acumulada el modelo utilizado fue significativo (P<0,0010 y 0.0002, respectivamente).

Tabla 15. Valores promedio para el peso final y la ganancia de peso acumulada (g) para los tratamientos con el grano de guandul

Dieta	Peso final[1]	Ganancia de peso acumulada[1]
T2	362,00^{B}	5,72^{D}
T3	641,67^{A}	76,22^{A}
T4	574,00^{A}	52,33^{B,C}
T5	632,00^{A}	69,45^{A,B}
T6	595,00^{A}	47,33^{C}
Promedio global	558,50	50,42
CV (%)	10,02	21,56
Raíz MSE	55,98	10,870,89
R^2	0,85	0,89

[1] Valores promedio con letra diferente en la misma columna son diferentes estadísticamente

Para la variable peso final los resultados indican que el valor más bajo fue para el grupo de pollos alimentados con la dieta cuya fuente de proteína fue la caseína. Todos los tratamientos superaron a la dieta con caseína. El peso final del grupo de pollos que se alimentó con caseína fue 43,58% del peso de los animales que recibieron la dieta con torta de soya, 36,9 % del obtenido con grano crudo de guandul, 42,7% y 39,1% en aquellos tratamientos con granos cocido y tostado de guandul.

No fueron diferentes los valores promedio en las dietas que contenían el GC, GC o GT o la TS. De acuerdo con los registros de la literatura se espera que la aplicación de procesos térmicos, como la cocción y el tostado, en virtud a que se inactivan los metabolitos secundarios y se debe mejorar la digestibilidad de la proteína, se traduzca en mayor peso de los pollos. Esta similitud estadística entre los granos procesados de guandul, no concuerda con lo encontrado por Singh y Eggum en 1984, quienes reportaron diferencias en la calidad biológica de la proteína del guandul según el tipo de tratamiento térmico encontrando que el calor húmedo (cocción) ofrece mejores respuestas que el calor seco (tostado). En sentido contrario cuando los pollos reciben dietas con granos crudos de leguminosas, incluyendo la de la soya, es de esperarse que el peso corporal resulte afectado negativamente. En este experimento no se presentaron los resultados publicados en la literatura.

Para la ganancia de peso acumulada no se presentó un resultado consistente, excepto con la dieta con caseína la cual, al igual que para el peso final, generó la respuesta más limitada. No parece existir evidencia en este estudio para afirmar que la cocción o el tostado mejoraron la respuesta animal en comparación con el grano crudo, pero cuando se comparan los dos procesos térmicos la cocción generó mayor ganancia de peso acumulada que el tostado; el estudio además indicó, al comparar los resultados generados por la dieta con torta de soya con las dietas con los granos de guandul, que el único tratamiento que no presentó diferencia fue cuando se suministró el grano cocido.

Si se toma como referencia la dieta con torta de soya la reducción en la ganancia de peso acumulada de la caseína fue 70,5%, en tanto que para el grano crudo y el tostado aunque fue menor esta reducción estuvo por encima del 20% (23,8% y 28,8%, respectivamente).

Si se toma como dieta de referencia la que contenía caseína como fuente de proteína se puede señalar que en los pollos que la recibieron la ganancia de peso acumulada se redujo en 46,6%, 63,7% y 41,6% frente a la obtenida por los pollos que recibieron granos de guandul crudos, cocidos y tostados respectivamente.

Finalmente, se estimó en 22,1% la reducción en la ganancia de peso acumulada cuando el pollo recibió una dieta con granos tostados si se compara con la misma fuente de proteína sometiendo el grano a cocción.

6.2.2.Consumo y excreción de nitrógeno.

La tabla registra los valores promedio para el consumo de nitrógeno y para la excreción no corregida de nitrógeno para la parte del experimento correspondiente al grano de guandul. Los estadísticos derivados de los análisis de varianza y los valores promedio de ambas variables, acompañados de la respectiva notación generada en la prueba de Duncan, se registran en la misma. Los respectivos análisis de varianza se registran en los Anexos

Tabla 16. Valores promedio para el consumo y la excreción no corregida de nitrógeno (g) para los tratamientos relacionados con el grano de guandul

Dieta	Consumo de nitrógeno[1]	Excreción no corregida de nitrógeno[1]
T2	2,536^{C}	1,20^{B}
T3	17,363^{A}	1,69^{B}
T4	16,697^{A,B}	3,26^{A}
T5	13,776^{B}	2,88^{A}
T6	19,715^{A}	3,97^{A}
Promedio global	14,41	2,62
CV (%)	11,01	22,2
Raíz MSE	1,58	0,58
R^2	0,94	0,79

[1] Valores promedio con letra diferente en la misma columna son diferentes estadísticamente

Los análisis de varianza muestran que para las variables en referencia el modelo utilizado fue significativo (P<0,00010 y 0.0037, respectivamente).

La comparación de medias mediante la prueba de Duncan para la variable consumo de nitrógeno indica que el valor más bajo se presentó en el tratamiento que utilizó la caseína como fue de nitrógeno. La comparación entre el tratamiento que incluyó torta de soya con los granos de guandul como fuente de proteína muestra que la única diferencia se presentó con el grano de guandul cocido: los pollos que se alimentaron con grano de guandul cocido consumieron 20,65% menos de nitrógeno que aquellos que se alimentaron con torta de soya. Entre los tratamientos con granos de guandul el comportamiento de la variable se presentó de la siguiente forma: no hubo diferencia entre los pollos que recibieron la dieta de guandul crudo y aquellos que la recibieron con el grano cocido o tostado, pero el grano tostado condujo a un consumo mayor de nitrógeno (5,94 g).

Los resultados para la excreción no corregida de nitrógeno indican que no hubo diferencia entre las dietas con caseína y torta de soya y entre las dietas con los granos de guandul

en sus tres presentaciones, pero estos valores fueron superiores a los de las dietas con caseína y torta de soya.

En la literatura se ha documentado que la acción de los factores antinutricionales no sólo interfiere con el aprovechamiento de los nutrientes, sino que pueden aumentar la proteína endógena excretada. Posiblemente esta última situación fue la que se presentó con el grano de guandul. Para el caso de los polifenoles activos (taninos), que poseen la capacidad de formar complejos estables con los nutrientes de la dieta, primordialmente la proteína, son dos los efectos que deprimen la digestibilidad: primero estos complejos son resistentes a la acción de los enzimas digestivas (Griffiths, 1981, citado por Brenes y Brenes, 1993) y en segundo lugar inhiben la acción enzimática intestinal lo que conduce a la mayor excreción de nitrógeno y por ende menor digestibilidad (Longstaff y McNab, 1991, y Martin-Tanguy *et al*, 1977, citados por Rubio y Brenes, 1995), adicional a lo anterior está el efecto de las lectinas las cuales por un mecanismo diferente también conducen a la pérdida de nitrógeno endógeno debido a su estrecha interacción con la mucosa intestinal que acompaña lesiones que afectan el transporte de los productos de la hidrólisis proteica a través de la membrana lo que contribuye al incremento de la excreción de nitrógeno (Pusztai *et al*, 1979, 1981, 1982, citados por Rubio y Brenes, 1995).

En el ensayo con guandul se estableció que el grano crudo o procesado térmicamente produjo excreciones de nitrógeno más altas que las que presentaron los pollos alimentados con caseína o torta de soya; llama la atención eso sí que independientemente de la condición del grano no hubo diferencia en la excreción de nitrógeno, situación que es de difícil explicación a partir del comportamiento del grano en cuanto al índice de ureasa y la solubilidad de la proteína como se analizó cuando se abordó este asunto. Sobre la base de trabajos consultados se esperaba que los pollos que recibieron la dieta con grano crudo de guandul excretaran más nitrógeno que aquellos que lo recibieron con alguno o con los dos procesos térmicos. Al no existir diferencia en esta variable entre las dietas con granos procesados y con el grano crudo se podría interpretar que tanto en la cocción como en el tostado se dieron condiciones de sobre-proceso las cuales se comportan igual que cuando el grano está crudo, porque el sobre-proceso térmico puede acompañar el aumento en la dietas de la concentración de formas de nitrógeno no digeribles ni absorbibles y, en consecuencia, aparece en las heces.

Un problema adicional que se debe abordar en este análisis es que los indicadores de proceso utilizados no parecen guardar relación con el resultado de la excreción de nitrógeno. Como se señaló en su momento en el grano crudo de guandul el índice de ureasa se comportó como correspondería a un grano sin proceso térmico alguno, pero de los dos procesos térmicos empleados solo la cocción atendió el valor referenciado en la

normatividad lo que sugeriría que como proceso tuvo un comportamiento adecuado. No se pudo concluir lo mismo para el tostado. Se esperaba que dicho proceso produjera valores indicadores de eficiencia de inactivación de la ureasa, pero así no ocurrió lo que conduce a sugerir que como no presentó diferencia con el grano crudo el proceso posiblemente no fue eficiente. Si se mira la situación desde este indicador se esperaría que no hubiese diferencia en la excreción de nitrógeno entre las dietas con el grano crudo y el tostado, pero que con la cocción fuera menor esta excreción. Si se tomará de manera aislada este indicador habría que decir que mientras su comportamiento se desplazó por una vía, la excreción de nitrógeno iba por otra.

Sí se toma el otro criterio de evaluación del proceso en su momento se indicó que solo el grano tostado de guandul cumplió el valor mínimo del 75% para la solubilidad de la proteína en KOH establecido en la normatividad para productos de la soya. En su momento también se relató que cuando se usaron los criterios propuestos por Machado (1997) se dedujo que el valor de solubilidad del 89,4% fue apropiado para describir un grano crudo. Por su parte los valores registrados sugirieron que mientras el tostado pareció ser un proceso adecuado, en la cocción se generaron condiciones de sobre proceso bien por el nivel de temperatura aplicado, bien por el tiempo de aplicación o por ambas condiciones. De la misma manera que se analizó la relación entre el índice de ureasa y la excreción de nitrógeno, el empleo aislado de la solubilidad de la proteína en KOH debió haber mostrado la existencia de diferencias en la excreción de nitrógeno entre el grano crudo y el grano procesado y, posiblemente, entre los dos procesos. Parece entonces también que es posible decir que sí se toma de manera aislada este indicador mientras su comportamiento se desplazó por una vía, la excreción de nitrógeno iba por otra.

6.2.3. Digestibilidad aparente y corregida del nitrógeno.

En la siguiente tabla se registran los valores promedio para la digestibilidad aparente y corregida del nitrógeno para la parte del experimento correspondiente al grano de guandul. Los estadísticos derivados de los análisis de varianza y los valores promedio de ambas variables, acompañados de la respectiva notación generada en la prueba de Duncan, se registran en la misma. Los respectivos análisis de varianza se registran en los Anexos.

Los análisis de varianza muestran que para las variables en referencia el modelo utilizado fue significativo ($P<0,0001$ y $P<0,0004$, respectivamente).

Tabla 17. Valores promedio para la digestibilidad aparente y corregida del nitrógeno (%) para los tratamientos relacionados con el grano de guandul

Dieta	Digestibilidad aparente de nitrógeno (B)[1]	Digestibilidad corregida de nitrógeno (A)[1]	Diferencia matemática estimada (A-B)
T2	52,30[C]	67,23[C]	14,93
T3	90,29[A]	92,46[A]	2,17
T4	80,65[B]	82,97[B]	2,32
T5	79,30[B]	82,07[B]	2,77
T6	79,79[B]	81,71[B]	1,92
Promedio global	78,16	82,31	
CV (%)	4,65	4,21	
Raíz MSE	3,63	3,46	
R^2	0,93	0,87	

[1] Valores promedio con letra diferente en la misma columna son diferentes estadísticamente

De acuerdo con los resultados de la tabla se observa que en el experimento se mantuvo la tendencia relatada en otros estudios según la cual los valores de digestibilidad aparente del nitrógeno son menores que los estimados a partir de la introducción de la corrección por nitrógeno endógeno. Llama la atención la diferencia pronunciada entre estos valores para la dieta con caseína. Mientras para las otras dietas esta diferencia estuvo en promedio en 2,30 para la dieta con caseína ésta fue aproximadamente siete veces mayor.

Los resultados de la tabla en referencia también muestran que fue similar el comportamiento de la comparación de promedios entre los tratamientos para la digestibilidad aparente y corregida. Mientras la dieta con caseína presentó los menores valores de digestibilidad del nitrógeno, la que incluyó torta de soya como única fuente de proteína arrojó los valores más altos. Los valores de digestibilidad en las dietas con grano de guandul no fueron diferentes entre sí y en todos los casos menores a los de la dieta con torta de soya.

No obstante que un valor promedio de digestibilidad aparente próximo al 80% y de 82% para la digestibilidad corregida para las tres presentaciones de grano de guandul se puede considerar bueno, no se puede soslayar que con estos granos se produjo la disminución de 10 unidades porcentuales en estas variables con respecto a la dieta con torta de soya.

En estas comparaciones la más damnificada fue la dieta con caseína. No obstante que con la torta de soya la caída fue más alta (38 y 25 unidades porcentuales en la digestibilidad aparente y corregida), con los granos de guandul en sus tres

presentaciones la disminución también fue importante si se tienen en cuenta cifras próximas a 28 y 15 unidades porcentuales.

El análisis de la digestibilidad en estas granos exige considerar el papel que juegan los factores antinutricionales responsables de la baja digestibilidad de la proteína. En el guandul son muy importantes los inhibidores de proteasas , las lectinas y los polifenoles que si bien son destruidos en cierta medida con tratamientos térmicos esta no es completa (solo en condiciones acidas se da la inactivación total) por la resistencia al calor de algunos de estos compuestos (si bien los inhibidores de proteasas son termolábiles, son más estables al calor los inhibidores de quimiotripsina que los inhibidores de tripsina) (Sing, 1988) permaneciendo activos generando alteraciones fisiológicas entre ellas la hipertrofia del páncreas que genera pérdidas endógenas de aminoácidos azufrados producto del incremento en la actividad secretora del páncreas rica en estos aminoácidos dando lugar a una perdida excesiva de estos impidiendo su deposición y uso para la síntesis de tejidos (Rubio y Brenes 1995, citados por Habiba 2002).

6.2.4. Balance de nitrógeno aparente y balance de nitrógeno corregido.

En la tabla que se presenta a continuación se registran los valores promedio para estas tres variables en estudio para la parte del experimento correspondiente al grano de guandul. Los estadísticos derivados de los análisis de varianza y los valores promedio de estas variables, acompañados de la respectiva notación generada en la prueba de Duncan, se registran en la misma. Los respectivos análisis de varianza se registran en los Anexos

Los análisis de varianza muestran que para las variables en referencia el modelo utilizado fue significativo para las dos variables relacionadas con el balance de nitrógeno ($P<0,0001$; $P<0,0001$ aparente y corregido).

Tabla 18. Valores promedio para el balance de nitrógeno aparente y balance de nitrógeno corregido para los tratamientos relacionados con el grano de guandul

Tratamiento	Balance de nitrógeno aparente (g) (B)[1]	Balance de nitrógeno corregido (g) (A)[1]	Diferencia matemática estimada (A-B)
T2	1,34[D]	1,71[D]	0,37
T3	15,67[A]	16,05[A]	0,38
T4	13,43[B]	13,81[B]	0,38
T5	10,89[C]	11,27[C]	0,38
T6	15,75[A]	16,13[A]	0,38
Promedio global	11,78	12,16	
CV (%)	1,11	9,19	
Raíz MSE	9,49	1,11	
R^2	0,96	0,96	

[1] Valores promedio con letra diferente en la misma columna son diferentes estadísticamente

La descripción general de los resultados de la tabla muestra que en el experimento todos los tratamientos presentaron valores positivos del balance de nitrógeno tanto aparente como corregido. En segundo lugar, al igual que lo establecido para la digestibilidad, los valores del balance aparente fueron menores que los estimados en el balance corregido por el nitrógeno endógeno. Llama la atención que, a diferencia de los resultados de la digestibilidad, en todos los tratamientos fue pequeña la diferencia (en promedio 0,38) entre los valores aparentes y corregidos para esta variable. Finalmente, el comportamiento de las comparaciones de los valores promedio mediante la prueba de Duncan fue semejante tanto para el balance aparente como corregido del nitrógeno, razón por la cual la descripción de dichas comparaciones cubrirá a amas.

En el campo de las comparaciones el primer hecho a destacar es que se mantiene el comportamiento observado para la digestibilidad en la dieta que contenía caseína como fuente de proteína: presentó los valores más bajos para el balance de nitrógeno. Las dietas que contenían torta de soya o grano de guandul tostado generaron valores semejantes de balance de nitrógeno y superiores a aquellas que tuvieron grano de guandul crudo o cocido. De las tres presentaciones del grano el tostado tuvo el mejor comportamiento, pero llama la atención que el tratamiento con el grano cocido fue el que presentó el comportamiento más limitado, resultado que se encuentra en sentido contrario respecto al cuerpo de trabajos que manifiestan la existencia de efectos benéficos de este tipo de procesos térmicos.

En el mismo terreno del análisis comparativo y situando la dieta con torta de soya como proteína de referencia se estima que los pollos que recibieron la dieta con guandul crudo presentaron 2,24 unidades porcentuales menos en el balance de nitrógeno aparente y

corregido; este valor, aunque siguió siendo positivo, fue mayor en el caso del grano cocido puesto que alcanzó a ser 4,78 unidades porcentuales. La comparación con el grano tostado indica que con relación al grano crudo las cifras fueron 2,32 unidades porcentuales para ambas variables, en tanto que con el grano crudo éstas fueron el doble (4,86).

La situación de la dieta con caseína fue la menos favorable cuando se compararon los valores del balance de nitrógeno aparente y corregido: fueron 14,33 unidades porcentuales menores comparada con la torta de soya, 12,09 con el guandul crudo, 9,55% en comparación con el guandul cocido y 14,41 para los granos tostados de guandul.

Un aspecto que no se realizó en este experimento, el cual se encuentra en algunos estudios, pocos por lo demás, es realizar determinaciones de humedad y nitrógeno corporal en los pollos al inicio de la fase experimental. El objetivo de esta determinación es establecer sí los tratamientos presentaron contenidos semejantes o diferentes de estas dos fracciones químicas e introducir esta información en un análisis de regresión tendiente a estimar si dichos contenidos se encuentran asociados con los mismos al finalizar el estudio. En caso que resulte significativo el modelo de regresión en el modelo GLM se introduciría esta regresión junto con los efectos de los tratamientos.

6.2.5. Valores de PER (Protein Efficiency Ratio) y NPR (Net Protein Ratio).

En la tabla que se presenta a continuación se registran los valores promedio para estas dos variables en estudio para la parte del experimento correspondiente al grano de guandul. Los estadísticos derivados de los análisis de varianza y los valores promedio de estas variables, acompañados de la respectiva notación generada en la prueba de Duncan, se registran en la misma. Los respectivos análisis de varianza se registran en los Anexos. El modelo fue significativo para ambos indicadores: ($P>0.0007$) y ($P> 0.0001$) respectivamente.

Tabla 19. Valores promedio para el PER y el NPR para los tratamientos relacionados con el grano de guandul

Dieta	PER[1]	NPR[1]
T2	0,97[B]	2,07[B]
T3	2,10[A]	2,81[A]
T4	1,47[B]	1,98[B]
T5	2,60[A]	2,98[A]
T6	1,16[B]	1,65[B]
Promedio global	1,81	2,41
CV (%)	16,97	10,43
Raíz MSE	0,30	0,25
R^2	0,86	0,86

[1] Valores promedio con letra diferente en la misma columna son diferentes estadísticamente

El análisis de varianza para el PER y el NPR para el experimento con guandul mostró que el modelo utilizado fue significativo (P<0,0007 y P<0,0006) respectivamente.

Para el PER los resultados mostraron que no fue diferente la relación entre el consumo de proteína y la ganancia de peso acumulada entre los pollos que recibieron las dietas con caseína o el grano de guandul crudo o tostado como fuente proteína y entre las dietas con torta de soya o el grano de guandul cocido. Entre las tres presentaciones de guandul el proceso de cocción tuvo el mejor comportamiento, mientras que parece ser que fue semejante el uso de la proteína en el grano o sometido a tostado.

Tampoco se observó diferencia entre los tratamientos con granos de guandul crudos y tostados con respecto a la caseína pero si una reducción del 30, y del 44,7% del valor del PER de los tratamientos crudo y tostado respectivamente con respecto a la dieta de referencia con torta de soya. El grano cocido supera a la dieta de caseína y a las dietas con granos crudos y tostados en 62,6%, 43,4% y 55,3% respectivamente. Este resultado de la dieta con caseína dista de lo encontrado por Shan (1991) quien reportó valores de PER para esta proteína de origen animal de 2,56 al evaluarla en ratones lo que coincide con lo hallado por Souza, Souza, Santos y Freitas (1991) quienes al evaluar granos de guandul en contraste con una dieta de referencia de caseína obtuvieron un valor de PER para ésta de 2,53 en tanto que para el guandul fue 1,65. El incremento en los valores de PER para los granos de leguminosas sometidos a procesos de calentamiento ha sido observado por diversos autores; en soya lo reportan Singh y Jambunatan (1982) quienes observaron incremento en el valor de PER de granos de soya de 1,3 en presentación cruda a 2,4 luego de someterlos a cocción. En granos de guandul también hay reportes del efecto benéfico para este indicador por efecto de la cocción. Shan (1991) encontró incrementos estadísticamente significativos en el valor del PER en tres variedades diferentes de granos de guandul crudos (0,73; 0,69; 0,60) y cocidos en agua en ebullición entre 71 y 74 minutos (1,56; 2,10; 1,35). Por su parte Singh y Jambunatan (1982),

también reportaron efecto positivo del calor sobre la calidad biológica de la proteína de guandul usando ratones como modelo animal al pasar 0,7 en el grano crudo a 1,6 cocido. En el trabajo de Li y otros (1982) también se evidencia que el mejor valor de PER (1,56) se obtuvo por cocción (ebullición a presión ambiental por 60 minutos).

Los valores de PER obtenidos para granos crudos y tostados se asemejan a los encontrados en la bibliografía consultada. De acuerdo con la FAO (1970) los valores de PER inferiores a 1,5 describen a una proteína de baja calidad. En el presente estudio los resultados reportados para granos crudos y tostados coincide con lo reportado por Bozzini y Silano (1984) citados por Singh y Eggum (1984), quienes concluyeron que el guandul tiene el valor biológico más bajo, (usando como indicador el PER), cuando se comparó con otras dos leguminosas. Los valores relatados por estos investigadores en ratones fueron: entre 0,7 a 1,8 para granos de guandul, entre 0,7 y 2,4 para granos de soya y entre 1,2 a 2,2 para *chic pea.* Lo anterior coincide con lo hallado por Nwokolo (1987), quien en ratones también halló el valor más bajo de PER (0,89) en relación con granos de *cow pea* (1,40) y 2,15 para fríjol soya.

Muchas razones podrían explicar el detrimento en el resultado de la evaluación de la calidad proteica de los granos de leguminosas crudos y procesados, mediante el indicador PER. Para el caso de los granos crudos ha sido bien documentada su pobre calidad biológica por la actividad y efecto de los metabolitos secundarios de las plantas principalmente de los inhibidores de proteasas y por el desbalance en su perfil de aminoácidos y deficiencia de los azufrados. En el caso de los granos procesados además de la precaria situación de los aminoácidos es sabido que la temperatura durante los procesos es uno de los factores que más influencia tiene sobre las variaciones en la calidad biológica de las proteínas (Anderson *et al,* 1993; Rosselot *et al,* 1996 y Opstvedt *et al,* 1984, citados por Hassan *et al*., (2007). El grado de procesamiento puede afectar negativamente el valor nutritivo de los granos así: el sobrecalentamiento declina la calidad de las proteínas vegetales y la digestibilidad de aminoácidos como la lisina y cisteina. La cisteína es más sensible al calor que la lisina. El sobrecalentamiento genera la formación de puentes disulfuro entre los grupos amino de aminoácidos básicos como la lisina y la arginina con grupos carbonilos de lípidos, glucosa y fructosa esta reacción aumenta la tasa de pasaje de la proteína por el tracto gastro intestinal haciendo indisponible estos aminoácidos (Carpenter, 1973 y Opstvedt *et al,* 1984, citados por Hassan *et al*., 2007). La metionina es un aminoácido limitante en dietas para pollos y también lo es en las granos de leguminosas; a la ya precaria cantidad de este aminoácido en los granos de leguminosa se suma su baja digestibilidad por la marcada resistencia de las fracciones proteicas a la acción de las proteasas que encuentran una barrera física al ataque enzimático por la estructura compacta de las proteínas globulares Sathe y Venkatachalam (2007), lo que también explicaría el detrimento en el valor del PER.

El desempeño para crecimiento y el PER resulta afectado significativamente cuando los animales son alimentados con granos adecuadamente procesados. Del resultado podría decirse que tanto la soya como los granos cocidos tuvieron un buen tratamiento térmico en términos de la inactivación de los factores anti-nutricionales sin detrimento de los aminoácidos esenciales en el proceso. El valor numérico del cómputo obtenido para soya pero especialmente para guandul cocido al ser comparado contra el valor PER estándar de 2,7 permitiría decir que es una proteína de excelente calidad con gran efectividad medida a través del crecimiento y la ganancia de peso.

Los resultados para el NPR ofrecen un panorama diferente. Para entender el alcance de este parámetro de evaluación de la calidad de la proteína se debe recordar que él establece la relación entre el peso ganado en un tiempo definido por un grupo de animales que recibe una dieta con la fuente de proteína que se evalúa. Hasta este punto tal vez no haya diferencia con respecto al PER; la diferencia surge porque al peso ganado por dicho grupo de animales se le debe sumar la pérdida de peso del grupo de pollos que recibió la dieta libre de nitrógeno. Aunque existe una relación lineal para el incremento de peso del animal y la calidad de la proteína ingerida no toda la proteína consumida se destina al crecimiento; parte de esta se utiliza para mantener el balance de nitrógeno corporal en cero; esto es: que una vez se cubre la necesidad de nitrógeno para el mantenimiento el nitrógeno restante se direcciona para cubrir los requerimientos de crecimiento. El grupo de animales sometidos a la dieta libre de nitrógeno se incluye para hacer esta corrección en el incremento de peso.

Similar a lo encontrado para el PER al comparar las medias de los tratamientos se observa que no existe diferencia significativa en los valores de NPR entre las dietas con proteína de soya y guandul cocido; lo que quiere decir que ambas proteínas son similares en su capacidad de sostener las necesidades nitrogenadas corporales para mantenimiento y además generar crecimiento. Hubo un incremento estadísticamente significativo el valor del PNR debido a la cocción del grano con respecto a los granos crudos y tostados de un 33,55 y 44,63% respectivamente¸ este mejor resultado de granos de guandul cocidos frente a tostados ha sido reportado por otros autores ; al respecto Singh y Eggum (1984) aseguraron que la calidad de la proteína se ve favorecida con tratamientos con calor húmedo (cocción) que con calor seco (tostado) al encontrar que la lisina disponible es menor en granos de guandul tostados comparativamente contra cocidos. También se ha atribuido esta mejora en la evaluación de la calidad proteica en términos de inactivación de las fitolectinas por el efecto de procesos del sometimiento de los granos de leguminosas al calor húmedo, sin ser efectivo el calor seco (Singh, 1988). El valor de la razón neta de la proteína para este tratamiento térmico de cocción también es superior al obtenido con la otra dieta de referencia con caseína en 30,53%.

Continuando con las comparaciones de medias para este indicador de PNR se aprecia en la tabla que el grano de soya no fue diferente al grano de guandul cocido pero si fue superior en un 29,53 y 41,28% con respecto al guandul crudo y tostado respectivamente y en 26,33% al compararlo con la otra dieta de referencia con caseína. No existe diferencia estadística entre granos crudos y tostados ni con estos y los valores de NPR obtenidos por la dieta de referencia con caseína.

6.3. Resultados específicos para Vitabosa (*Mucuna sp*)

6.3.1. Peso final y ganancia de peso

El análisis de varianza para el peso final y la ganancia de peso para las dietas que con mucuna, caseína y torta de soya indicaron que el modelo utilizado fue significativo (P< 0,0001) en ambas variables; La tabla registra los valores promedio para el peso final y la ganancia de peso acumulada para los tratamientos con grano de mucuna y las dietas de referencia. Los respectivos análisis de varianza se registran en los Anexos. Los estadísticos derivados de los análisis de varianza y los valores promedio de ambas variables, acompañados de la respectiva notación generada en la prueba de Duncan, se registran en la misma

Tabla 20. Peso final y ganancia de peso (g) para dietas con Vitabosa y de referencia

Dieta	Peso final[1]	Ganancia de peso acumulada[1]
T2	362,00 [B]	5,72 [B]
T3	641.67 [A]	76,22 [A]
T7	307,50 [B]	-35,75 [D]
T8	362,67 [B]	-18,78 [C]
T9	351,33 [B]	-24,44 [C]
Promedio global	398,93	-1,67
CV (%)	8,51	-383
Raíz MSE	33,95	6,43
R^2	0,94	0,98

[1] Valores promedio con letra diferente en la misma columna son diferentes estadísticamente

El análisis de comparación de medias para la variable de peso final muestra que hubo superioridad significativa de la dieta con torta de soya sobre todas las de granos de mucuna y la otra dieta de referencia; la disminución en el peso final de los pollos es del orden de 52,0, 43,4, 45,2 y 43,5% para los granos crudos, cocidos y tostados y caseína respectivamente al compararlos con la dieta de soya. No se presenta diferencia estadística entre los tratamientos con granos de mucuna lo cual es contradictorio a lo

reportado por los autores consultados quienes encuentran respuestas diferenciadas entre granos crudos y procesados sobre el peso final de los animales; explicado por el efecto que el tratamiento térmico ejerce sobre la inactivación de muchas de las sustancias bio-activas que afectan el desempeño animal. Para el presente estudio, fue drástico el efecto del peso, lo que podría sugerir que el tratamiento fue inadecuado al punto de afectar la integridad de los aminoácidos y la calidad de las proteínas dadas las baja respuesta para esta variable.

Los tratamientos con granos de mucuna crudos, cocidos y tostados presentan una ganancia de peso negativa; hubo pérdida de peso; la comparación de medias muestra la superioridad de la dieta con torta de soya sobre las otras dietas de 146,9, 124,6, 132 y 92,4% para MC, MC, MT y CA respectivamente. La dieta de caseína superó todos los tratamientos con granos de mucuna. No hay diferencia entre ambos procesos térmicos y estos tratamientos a su vez superan la dieta con mucuna crudo. Los resultados encontrados para esta variable establecen una marcada diferencia entre las dietas de referencia y los granos de mucuna con y sin proceso térmico; lo cual no concuerda con lo hallado por otros autores quienes reportan mejores ganancias de peso cuando emplean granos procesados; no obstante muchos trabajos reportados en este estudio coinciden al afirmar que cuando el proceso térmico es inadecuado se reduce la digestibilidad de la proteína y disponibilidad de aminoácidos, ya críticos en estos granos principalmente los azufrados, limitantes en aves. Esto se relaciona con lo encontrado en este estudio, para estos granos en lo referente a los indicadores de calidad del tratamiento térmico mediante la solubilidad de la proteína en KOH, que indica un sobre-proceso cuyo efecto sobre la desnaturalización e insolubilidad de las proteínas y el consecuente bajo desempeño y pobre crecimiento ha sido ampliamente documentado.

6.3.2.Consumo y excreción de nitrógeno.

El modelo para el consumo de nitrógeno resultó significativo (P<0,0001), pero no para el nitrógeno fecal (P>0,3008). Para el caso del consumo, al menos dos tratamientos difieren entre sí; los resultados para estas variables se consignan en la siguiente tabla.

Tabla 21. Consumo y excreción de Nitrógeno (g) para las dietas con Vitabosa y de referencia**.**

Dieta	Consumo de Nitrógeno[1] (g)	Excreción de nitrógeno[1] (g)
T2	2,54 [C]	1,20 [A]
T3	17,36 [A]	1,69 [A]
T7	4,75 [B]	1,31 [A]
T8	2,70 [C]	1,39 [A]
T9	2,07 [C]	1,07 [A]
Promedio global	6,03	1,36
CV (%)	12,74	22,27
Raíz MSE	0,76	0,30
R^2	0,98	0,46

[1] Valores promedio con letra diferente en la misma columna son diferentes estadísticamente

La comparación de los promedios para el consumo de nitrógeno indica que el valor obtenido por las aves que recibieron la dieta TS superó a los promedios restantes para esta variable. La reducción en el valor que presentaron las otras dietas en porcentaje relativo al tratamiento con soya fue de 14,8% en el caso de la dieta C ; 12,6 % para el tratamiento que tuvo grano de mucuna crudo como fuente de proteína; 14,6% en el caso de dietas con MC y 15,2% para la dieta con MT. La comparación entre los tratamientos con los granos experimentales indica que el consumo de nitrógeno por las aves asignadas al tratamiento con granos crudos fue superior a los de granos procesados. Ambos, crudos y tostados, son 43,1 y 56,4% inferiores respectivamente en relación al grano sin procesar. La caseína también es estadísticamente inferior al grano crudo; en esta ocasión la merma en el consumo de nitrógeno de los pollos que recibieron esta dieta de referencia fue de 46,5%. No hubo diferencia entre los valores de los tratamientos con granos procesados y la dieta con caseína.

La reducción en el caso de los granos crudos se asocia con la disminución de la calidad nutricional por el efecto de los metabolitos secundarios de las plantas o anti-nutricionales activos presentes en los granos ya que estos compuestos producen en general una disminución en el consumo voluntario.

Se ha sugerido que tanto el nivel de energía como de proteína en la dieta deben considerarse cuando se evalúan proteínas. No obstante lo anterior la metodología para estas determinaciones no lo considera. Es probable que los bajos valores de consumo de alimento comunes en estos experimentos sean explicados por estas consideraciones, ya

que energía es probablemente uno de los factores más importantes a considerar cuando se estudia el valor nutritivo de la proteína debido a su influencia sobre el consumo de alimento; no solo de su nivel sino la relación caloría /proteína de la dieta (Summer *et al*, 1964).

Otra explicación al asunto del consumo está relacionada con la composición química de la proteína; al respecto Summer y Fisher (1964) demostraron que el desbalance de aminoácidos, común en este tipo de granos, se manifiesta en reducción en el consumo de alimento.

Esta tabla para la excreción de nitrógeno indica similitud estadística para todos los tratamientos por lo que no existe diferencia entre los valores. Debía esperarse una respuesta diferenciada entre los granos sometidos a procesos térmicos y los crudos; en virtud de una mejor digestibilidad del nitrógeno por efecto de la inactivación o reducción de los efectos deletéreos de estas sustancias bioactivas o anti-nutricionales sobre la digestibilidad de la proteína.

6.3.3. Digestibilidad aparente y corregida del nitrógeno

El modelo para ambas variables resultó significativo (P<0,0015) y (P<0,0004) respectivamente. En los anexos se consignan los análisis de varianza. En la siguiente tabla se consignan los valores promedio para estos indicadores, así como los estadísticos derivados del análisis de varianza y las notaciones para las comparaciones entre medias de Duncan.

Tabla 22 . Valores promedio para la digestibilidad aparente y corregida del nitrógeno (%) para las dietas con Vitabosa y de referencia

Dieta	Digestibilidad aparente del nitrógeno (B)[1]	Digestibilidad corregida del nitrógeno (A)[1]	Diferencia Matemática Estimada (A-B)
T2	52,30 C	67,23 BC	14,93
T3	90,29 A	92,46 A	2,17
T7	69,78 B	78,62 B	8,84
T8	49,11 C	62,89 C	13,78
T9	36,29 C	59,32 C	23,03
Promedio global	62,96	74,34	
CV (%)	11,12	7,46	
Raíz MSE	7,00	5,55	
R^2	0,92	0,89	

[1] Valores promedio con letra diferente en la misma columna son diferentes estadísticamente

El análisis de la comparación entre medias para la digestibilidad aparente muestra diferencia significativamente superior de la dieta con torta de soya respecto a las demás. La reducción en la digestibilidad aparente de estas fue de 42,0, 22,7, 45,6 y 59,8% para CA, MC, MCO y MT respectivamente. La digestibilidad aparente de la dieta con MC superó a la de las dietas con granos procesados cocidos y tostados y caseína en 29,6, 47,9 y 25,0% respectivamente. No hubo diferencia entre los granos procesados y la caseína. La digestibilidad corregida muestra la misma tendencia de la aparente; la comparación de medias para esta variable muestra una superioridad significativa de la dieta con torta de soya como fuente de proteína sobre aquellas con caseína y los granos de mucuna crudos, cocidos y tostados en 27,2, 14,9, 31,9 y 35,8% respectivamente. La digestibilidad corregida del grano crudo fue superior a la de los granos procesados cocidos y tostados en 20 y 24,5%. Entre los granos procesados no hubo diferencia estadística. La dieta con caseína no fue diferente a la conformada con granos de mucuna.

La elevada digestibilidad del Nitrógeno de la dieta con torta de soya es coherente con lo hallado en los parámetros anteriores de consumo y excreción y para los balances de nitrógeno que muestran efectivamente una relación coherente de estos resultados con base en lo ingerido y lo excretado.

La comparación entre las variables para todos los tratamientos muestra la tendencia generalizada de obtener valores de digestibilidad aparente de nitrógeno menor que la corregida al introducir la corrección con nitrógeno endógeno.

Muchos son los factores que afectan la digestibilidad en granos de leguminosas; ha sido ampliamente documentado que esta es limitada ; particularmente se señala la resistencia a la hidrolisis de las moléculas proteicas de estas granos por su conformación y estructura compacta lo que explicaría la baja digestibilidad de los granos crudos de mucuna; y debería esperarse que una desnaturalización parcial por efecto de los tratamientos térmicos mejorara la digestibilidad , sin embargo, como se ha mencionado , el proceso térmico aplicado a los granos de mucuna en este estudio sugiere un sobrecalentamiento lo que podría resultar en una desnaturalización total de la proteína de los granos, que induce a la inactividad, insolubilización y aceleración de interacciones carbohidrato-proteína y otras que reducen su digestibilidad.

6.3.4. Balance de nitrógeno aparente y corregido.

El modelo para estas variables (balance de nitrógeno aparente y corregido) resultó significativo (P<0,0001). Los análisis de varianza están disponibles en los anexos. Las medias para estas variables, los estadísticos derivados del análisis de varianza y las notaciones para las comparaciones de medias según Duncan se consignan en la siguiente tabla.

Tabla 23 Valores promedio para el balance de nitrógeno aparente y corregido para las dietas con Vitabosa y de referencia.

Tratamiento	Balance de nitrógeno aparente (g) (B)	Balance de nitrógeno corregido(g) (A)	Diferencia Matemática Estimada (A-B)
T2	1,34 [C]	1,71 [C]	0,37
T3	15,67 [A]	16,05 [A]	0,38
T7	2,97 [B]	3,35 [B]	0,38
T8	1,34 [C]	1,72 [C]	0,38
T9	0,67 [C]	1,05 [C]	0,38
Promedio global	5,21	5,5	
CV (%)	9,02	8,41	
Raíz MSE	0,47	0,47	
R^2	0,99	0,99	

[1] Valores promedio con letra diferente en la misma columna son diferentes estadísticamente

El análisis de los resultados para la variable de nitrógeno corporal indica que los valores de nitrógeno de todos los tratamientos con granos de mucuna y torta de soya son similares y superiores al valor obtenido para la dieta de caseína. La reducción porcentual de esta dieta respecto a las demás es de 24,6% comparativamente a la dieta de referencia con soya ; 25,8% en contraste con la de los granos de mucuna crudos; 26,3% , respecto a los granos cocidos y 24,4% cuando es comparada con los resultados obtenidos con dietas basadas en granos tostados de mucuna.

La comparación de medias para el balance de nitrógeno corregido indica diferencia entre los tratamientos siendo significativa y superior para la dieta con proteína de torta de soya; el valor de las demás dietas presentan una reducción porcentual con referencia a esta de 91,4, 81,0, 91,4 y 95,7% para la caseína y las dietas con granos de mucuna crudos, cocidos y tostados respectivamente. Los tratamientos que involucraron proceso térmico son estadísticamente inferiores a la dieta con granos crudos con reducción para el valor de esta variable en 54,88% para los granos cocidos y de 77,4% para los tostados; así mismo la dieta de caseína presenta una merma del 54,8% del valor para el balance aparente de nitrógeno con respecto al tratamiento de grano crudo. No hubo diferencia entre los tratamientos procesados y la caseína. No obstante las diferencias entre tratamientos todos ellos presentan un balance de nitrógeno positivo.

El balance corregido de nitrógeno según esta comparación de medias de Duncan, traza la misma tendencia del resultado obtenido para el balance aparente del nitrógeno al

mostrar superioridad de la dieta con torta de soya sobre todas las demás; la reducción en el valor de esta variable es de 89,3% para la de caseína, 79,1%, 89,2 y 93,4% para granos de mucuna crudos cocidos y tostados respectivamente en relación a la dieta de referencia con soya. La dieta con granos de mucuna crudos presenta un balance de nitrógeno corregido estadísticamente diferente y superior a los tratamientos con granos procesados; la reducción de estos es de 48,6 y 68,6% para cocidos y tostados respectivamente y de 48,9% para la segunda dieta de referencia con caseína que resulto similar a los granos procesados que tampoco muestran diferencias estadísticas entre si.

Todos los resultados descritos en la tabla muestran valores de balance de nitrógeno positivo; tanto aparente como corregido. Así mismo en todos los tratamientos el balance aparente fue menor que el corregido mediante la corrección con el dato de nitrógeno endógeno.

6.3.5. Valores de PER (Protein Efficiency Ratio) y NPR (Net Protein Ratio)

De acuerdo con el registro de los análisis de varianza para ambos parámetros de la calidad biológica de la proteína de las dietas fue significativo el modelo seleccionado (P<0,0001y P<0,0006) para las dietas con mucuna, caseína y torta de soya. En la tabla que se presenta a continuación se consignan los valores medios obtenidos para estos indicadores, acompañados de los estadísticos derivados del análisis de varianza, y las correspondientes notaciones para la prueba de comparación de medias de Duncan.

Tabla 24 Valores promedio de PER y NPR para dietas de Vitabosa y de referencia

Dieta	PER	NPR
T2	0,97 [A]	2,07[AB]
T3	2,10 [A]	2,81[A]
T7	-3,73 [B]	-1,25[D]
T8	-3,36 [B]	0,70[BC]
T9	-5,59 [C]	0,31[C]
Promedio global	-2,23	0,70
CV (%)	-38,47	113,46
Raíz MSE	0,85	0,80
R^2	0,94	0,83

[1] Valores promedio con letra diferente en la misma columna son diferentes estadísticamente

No hubo diferencia en los valores para el PER entre el grano crudo y el cocido que a su vez son estadísticamente superiores al tostado. Los granos de mucuna respecto a las dietas de referencia resultaron estadísticamente inferiores; al compararlos con la torta de soya, se obtuvo una reducción para este indicador del 277,6, 260 y 366,1% con los granos de mucuna crudos, cocidos y tostados respectivamente. No hay PER positivo cuando no hay ganancia de peso estos valores negativos de PER reflejan la siguiente pérdida de peso: -37,75 g, -18,78 g, -24,44 g, para crudos, cocidos y tostados respectivamente. En este caso la ganancia de peso en el cálculo matemático del indicador, es un valor negativo. Una situación similar es reportada por Liener 1979, citados en el trabajo de Using y Eggum 1984, quienes no reportan valores de PER pues obtuvieron pérdidas de peso en la evaluación de granos crudos de common bean, Hyacinth bean y Lima bean; al igual que Agbede y Aletor en 2005 quienes reportan valores negativos de PER de -0,8 y -1,1 para granos de Jack bean y Devil bean respectivamente.

Contrario a lo anterior, Vadivel y Pugalenthi en 2007 al evaluar granos de mucuna crudos, cocidos (90-95ºC por una hora) y tostados (20 minutos a 100- 110ºC) en ratones, encontraron valores positivos para PER de 1,87, 2,3, y 2,33 respectivamente; además se registra una mejora en los valores en los granos procesados con respecto a los crudos. Hallazgos en la misma tendencia se registraron en el trabajo de Siddhuraju *et al*., (1996), quienes evaluaron granos crudos y tostados (120ºC por 30 minutos) de mucuna en ratones, encontrando valores positivos de PER de 0,66 y 1,12 para crudos y tostados.

Estos resultados de la evaluación de la calidad de la proteína, para los granos de mucuna mediante el indicador del PER al ser comparados con la escala de calidad de proteína que establece un valor PER estándar de referencia de 2,5 (elevada calidad) para la proteína de la caseína Munro y Allison 1969 citado por Dust *et al*., 2005, lo clasificaría como una proteína de baja calidad. Son muchos los factores que afectan la calidad biológica de las proteínas; en general las proteínas provenientes de fuentes vegetales, presentan valores bajos en los diferentes métodos de evaluación al compararlas con proteínas de origen animal que son más completas y equilibradas en su perfil de aminoácidos esenciales. Entre proteínas vegetales y particularmente entre leguminosas la proteína de soya generalmente presenta valores superiores a las de otros granos.

Las comparaciones de medias para el NPR, reflejan la misma situación del PER: valores negativos como consecuencia de pérdidas de peso como efectivamente sucedió en los tratamientos con granos de mucuna crudos. No obstante la situación para el NPR es diferente al comparar los procesos térmicos con las dietas de referencia pues no existe diferencia entre la dieta con caseína y la de vitabosa cocida; pero esta dieta de referencia supera en 160,3% a la vitabosa cruda y en 85,02% a la dieta con granos de vitabosa tostados. Se encontró que no hubo diferencia entre los granos cocidos y tostados y ambos superaron los granos crudos; Todas las dietas experimentales fueron superadas por la dieta de referencia de torta de soya, como quiera que al compararla con los tratamientos con los granos de mucuna se observó una reducción en la retención neta

de la proteína de 144,4 , 75,0 y 88,9% para granos crudos, cocidos y tostados respectivamente; esta reducción es menos drástica que la presentada por el valor de PER de las dietas experimentales; lo que significa que a pesar de que la proteína de las granos de mucuna crudos, cocidos o tostados no puede promover ganancia de peso en los animales sometidos a estas, puede en el caso de granos cocidos y tostados, mantener el balance positivo de nitrógeno, es decir que soporta los requerimientos nitrogenados para el mantenimiento no así para la dieta con granos crudos que arroja un valor negativo de NPR. No hubo diferencia estadísticamente significativa entre ambas dietas de referencia.

7. Conclusiones

Aunque no hubo resultados consistentes entre las diferentes variables involucradas, los resultados del PER y NPR como indicadores de la calidad biológica de la proteína de los granos en estudio, sugieren que las condiciones propuestas para el tratamiento térmico con calor húmedo (cocción) empleadas, fueron suficientes para mejorar el valor nutritivo de guandul (*Cajanus sp*) mas no así para los granos de vitabosa (*Mucuna sp*) que reflejaron valores negativos o cercanos a cero para estos parámetros.

Las condiciones de proceso propuestas para tratamiento térmico con calor seco (tostado) no incrementaron el valor nutritivo de las proteínas de los granos sometidos a este; generando respuestas adversas en los indicadores de calidad biológica de las proteínas y resultados similares a los obtenidos con granos sometidos a calor excesivo.

Este estudio mostró que la fracción proteica predominante de los granos de guandul (*Cajanus sp*) y vitabosa (*Mucuna sp*) es la albúmina seguida de las glutelinas y globulinas; en tanto que las proteinas del tipo prolamina se encuentran en niveles traza en ambos granos.

8. Recomendaciones

Es recomendable encontrar las condiciones óptimas de tiempo y temperatura aplicados durante el proceso térmico a los granos de guandul (*Cajanus sp*) y vitabosa (*Mucuna sp*) para conseguir con ello el mayor valor nutricional de los mismos.

Así mismo es deseable acompañar los resultados de procesos térmicos a estos granos, con mediciones directas de inhibición de los principales metabolitos secundarios o anti-nutricionales como método de verificación de la efectividad del tratamiento con calor.

ANEXOS

Anexo Nº1. Procedimiento GLM - ANAVA para el peso inicial

Procedimiento GLM

Variable dependiente: PINICIAL

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	8	2014.17778	251.77222	0.47	0.8719
Error	36	19456.80000	540.46667		
Total correcto	44	21470.97778			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	PINICIAL Media
0.093809	5.516543	23.24794	421.4222

Fuente	DF	Tipo I SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
TRATAM	8	2014.177778	251.772222	0.47	0.8719

Fuente	DF	Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
TRATAM	8	2014.177778	251.772222	0.47	0.8719

Anexo Nº 2. Procedimiento GLM - ANAVA para el análisis de la regresión entre el peso inicial y el peso final.

Procedimiento REG
Modelo: MODEL1
Variable dependiente: PFINAL

Analysis of Variance

Fuente	DF	Sum of Squares	Mean Square	F-Valor	Pr > F
Modelo	1	30611	30611	1.38	0.2495
Error	30	665971	22199		
Total corregido	31	696582			

Root MSE	148.99340	R-cuadrado	0.0439
Media dependiente	442.43750	Adj R-Sq	0.0121
Coeff Var	33.67558		

Parámetros estimados

Variable	DF	Parameter Estimate	Standard Error	Valor t	Pr > |t|
Término i	1	-181.09329	531.64407	-0.34	0.7358
PINICIALe	1	1.48870	1.26775	1.17	0.2495

Anexo Nº3. Procedimiento GLM – ANAVA para el consumo de nitrógeno para las dietas con guandul y de referencia.

Procedimiento GLM

Variable dependiente: CONSUMON

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	4	381.7373603	95.4343401	37.90	<.0001
Error	9	22.6646693	2.5182966		
Total correcto	13	404.4020297			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	CONSUMON Media
0.943955	11.01005	1.586914	14.41333

Anexo Nº4. Procedimiento GLM – ANAVA para la excreción de nitrógeno en las dietas con guandul y de referencia

Procedimiento GLM

Variable dependiente: NHECES

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	4	11.76041174	2.94010294	8.67	0.0037
Error	9	3.05081132	0.33897904		
Total correcto	13	14.81122306			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	NHECES Media
0.794020	22.20248	0.582219	2.622315

Anexo Nº5. Procedimiento GLM – ANAVA para el balance de nitrógeno aparente para dietas con guandul y de referencia

Procedimiento GLM

Variable dependiente: BN

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	4	306.4431194	76.6107799	61.19	<.0001
Error	9	11.2674982	1.2519442		
Total correcto	13	317.7106176			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	BN Media
0.964535	9.490390	1.118903	11.78985

Anexo Nº6. Procedimiento GLM – ANAVA para el balance de nitrógeno corregido para dietas con guandul y de referencia

Variable dependiente: BNCORR

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	4	306.4431194	76.6107799	61.19	<.0001
Error	9	11.2674982	1.2519442		
Total correcto	13	317.7106176			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	BNCORR Media
0.964535	9.196213	1.118903	12.16700

Anexo Nº7. Procedimiento GLM – ANAVA para la digestibilidad aparente del nitrógeno de las dietas con guandul y de referencia

Procedimiento GLM

Variable dependiente: DIGAPAR

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	4	1808.065150	452.016288	34.16	<.0001
Error	9	119.096129	13.232903		
Total correcto	13	1927.161280			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	DIGAPAR Media
0.938201	4.653915	3.637706	78.16442

Anexo Nº8. Procedimiento GLM – ANAVA para la digestibilidad corregida del nitrógeno de las dietas con guandul y de referencia

Procedimiento GLM

Variable dependiente: DIGCORR

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	4	766.5663472	191.6415868	15.92	0.0004
Error	9	108.3552215	12.0394691		
Total correcto	13	874.9215686			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	DIGCORR Media
0.876154	4.215097	3.469794	82.31825

Anexo Nº9. Procedimiento GLM – ANAVA para la ganancia de peso para dietas con guandul y de referencia

Procedimiento GLM

Variable dependiente: GP

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	4	9106.86017	2276.71504	19.28	0.0002
Error	9	1062.96033	118.10670		
Total correcto	13	10169.82050			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	GP Media
0.895479	21.55576	10.86769	50.41664

Anexo Nº10. Procedimiento GLM – ANAVA para el peso final de los tratamientos con granos de guandul y de referencia

Procedimiento GLM

Variable dependiente: PFINAL

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	4	156178.8333	39044.7083	12.46	0.0010
Error	9	28208.6667	3134.2963		
Total correcto	13	184387.5000			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	PFINAL Media
0.847014	10.02413	55.98479	558.5000

Anexo Nº11. Procedimiento GLM – ANAVA para el PER de los tratamientos con granos de guandul y de referencia

Procedimiento GLM

Variable dependiente: PER

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	4	5.33228089	1.33307022	14.08	0.0007
Error	9	0.85234141	0.09470460		
Total correcto	13	6.18462229			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	PER Media
0.862184	16.97233	0.307741	1.813193

Anexo Nº12. Procedimiento GLM – ANAVA para el PNR de los tratamientos con granos de guandul y de referencia

Procedimiento GLM

Variable dependiente: NPR PARA LAS DIETAS CON CASEÍNA, TORTA DE SOYA Y GUANDUL (CRUDO, COCIDO Y TOSTADO)

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	4	3.72497725	0.93124431	14.66	0.0006
Error	9	0.57170312	0.06352257		
Total correcto	13	4.29668037			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	NPR Media
0.866943	10.43985	0.252037	2.414182

Anexo Nº13. Procedimiento GLM – ANAVA para el consumo de nitrógeno para las dieta con mucuna y de referencia.

Procedimiento GLM

Variable dependiente: CONSUMON

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	4	496.7001793	124.1750448	210.13	<.0001
Error	10	5.9095223	0.5909522		
Total correcto	14	502.6097016			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	CONSUMON Media
0.988242	12.74678	0.768734	6.030809

Anexo Nº14. Procedimiento GLM – ANAVA para la excreción de nitrógeno en las dietas con mucuna y de referencia

Procedimiento GLM

Variable dependiente: NHECES

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	4	0.55047719	0.13761930	1.50	0.3008
Error	7	0.64415444	0.09202206		
Total correcto	11	1.19463163			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	NHECES Media
0.460792	22.27433	0.303351	1.361888

Anexo Nº15. Procedimiento GLM – ANAVA para el balance de nitrógeno aparente para dietas con mucuna y de referencia

Procedimiento GLM

Variable dependiente: BN

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	4	444.5132171	111.1283043	500.81	<.0001
Error	7	1.5532792	0.2218970		
Total correcto	11	446.0664963			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	BN Media
0.996518	9.026005	0.471059	5.218915

Anexo Nº16. Procedimiento GLM – ANAVA para el balance de nitrógeno corregido para dietas con mucuna y de referencia

Procedimiento GLM

Variable dependiente: BNCORR

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	4	444.5132171	111.1283043	500.81	<.0001
Error	7	1.5532792	0.2218970		
Total correcto	11	446.0664963			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	BNCORR Media
0.996518	8.417701	0.471059	5.596059

Anexo Nº17. Procedimiento GLM – ANAVA para la digestibilidad aparente del nitrógeno de las dietas con mucuna y de referencia

Procedimiento GLM

Variable dependiente: DIGAPAR

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	4	4412.547284	1103.136821	22.48	0.0004
Error	7	343.560194	49.080028		
Total correcto	11	4756.107478			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	DIGAPAR Media
0.927764	11.12597	7.005714	62.96722

Anexo Nº18. Procedimiento GLM – ANAVA para la digestibilidad corregida del nitrógeno de las dietas con mucuna y de referencia

Procedimiento GLM

Variable dependiente: DIGCORR

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	4	1855.061658	463.765414	15.05	0.0015
Error	7	215.739467	30.819924		
Total correcto	11	2070.801124			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	DIGCORR Media
0.895818	7.467297	5.551569	74.34510

Anexo Nº19. Procedimiento GLM – ANAVA para la ganancia de peso para dietas con mucuna y de referencia

Procedimiento GLM

Variable dependiente: GP

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	4	25445.41832	6361.35458	153.60	<.0001
Error	11	455.55137	41.41376		
Total correcto	15	25900.96970			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	GP Media
0.982412	-383.7133	6.435352	-1.677125

Anexo Nº20. Procedimiento GLM – ANAVA para el peso final de los tratamientos con granos de mucuna y de referencia

Procedimiento GLM

Variable dependiente: PFINAL

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	4	225033.9375	56258.4844	48.80	<.0001
Error	11	12681.0000	1152.8182		
Total correcto	15	237714.9375			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	PFINAL Media
0.946655	8.510901	33.95318	398.9375

Anexo Nº21. Procedimiento GLM – ANAVA para el PER de los tratamientos con granos de mucuna y de referencia

Procedimiento GLM

Variable dependiente: PER

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	4	123.4944366	30.8736091	41.81	<.0001
Error	10	7.3838962	0.7383896		
Total correcto	14	130.8783327			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	PER Media
0.943582	-38.47524	0.859296	-2.233374

Anexo Nº22. Procedimiento GLM – ANAVA para el PNR de los tratamientos con granos de mucuna y de referencia

Procedimiento GLM

Variable dependiente: NPR PARA LAS DIETAS CON CASEÍNA, TORTA DE SOYA Y MUCUNA (CRUDA, COCIDA Y TOSTADA)

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	4	33.05452393	8.26363098	12.80	0.0006
Error	10	6.45396941	0.64539694		
Total correcto	14	39.50849335			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	NPR Media
0.836643	113.4602	0.803366	0.708060

BIBLIOGRAFIA

Adebowale Y.A... Adeyemi I.A. Oshodi A: A: Variability in the physicochemical, nutritional and antinutritional attributes of six Mucuna species Food Chemistry 89 (2005) 37–48.

Adebowale, Y.A; Adeyemi, I.A; Oshodi, A; Niranjan, K; Isolation, fractionation and characterization of proteins from Mucuna bean. Food Chemistry 104. 287–299 (2007)

Agdebe, J. y Aletor, V. (2005). Studies of the chemical composition and protein quality evaluation of differently processed Canavalia ensiformis and Mucuna pruriens seed flours. Journal of Food Composition and Analysis, 18, 89-103.

Aimiuwu, O.C. and Lilburn, M.S. Protein quality of poultry by-product meal manufactured from whole fowl co-extruded with corn or wheat. 2006. Poultry Science 85:1193-1999.

Annett H.E. El contenido de ureasa de ciertas granos de India. Agricultural Research Laboratory, Dacca, Bengal. 1914

Aviagen. Broiler Ross 308. Objetivos de Rendimiento. 2012. 23 p.

Azinheira HG, Martins LL; de Sousa RB, Carvalho I; Sousa MM.Caracterizaçao da fracçao de albuminas de algunas variedades de feijoesde Cabo Verde. Anais do Instituto Superior de Agronomia 1997

Balasubramanian A, Pomuraj K. Purification, crystallization and preliminary x-ray analysis of urease from pigeon pea (Cajanus Cajan). Acta crystaloor sect F struct Biol Crysst commun. 2008 Jul, 1 64 (pt 7) : 662- 664 . Epub 2008. Jun 28

Bender BY A. E y Doell, B. H. Biological evaluation of proteins: a new aspect .Nutr. 11, 2. 1957. 140-148

Bolter D. The composition and nutritional value of legumes in relationship to crop improvement by breeding. Proc. Nutr. Soc (. 1982),4 1, I.

Boye J, Zare F, Pletch A. Pulse proteins: Processing, characterization, functional properties and applications in food and feed Food Research International 43 (2010) 414–431

Brenes, A. y Brenes, J. Tratamiento tecnológico de los granos de leguminosas: influencia sobre su valor nutritivo. En IX Curso de Especialización Fedna. Barcelona, 8 y 9 de noviembre de 1993. 32 p. Encontrado en http://www.etsia.upm.es/fedna/capitulos/93CAP_11.pdf Consultado en marzo de 2010.

Búcaro S. M.E. y Bressani R. Distribución de la proteína en fracciones físicas de la molienda y tamizado del grano de amaranto ALAN v.52 n.2 supl.2 Caracas jun. 2002

Camelo S, Torres V. y Díaz M F. Análisis multivariado de los factores antinutricionales de los granos de leguminosas temporales. Revista Cubana de Ciencia Agrícola, Tomo 42, Número 4, 2008. 337-340

Chalupa, W y Fisher, A. Comparative Protein Evaluation Studies by Carcass Retention and Nitrogen Balance Methods. Journal of. Nutrition, 81: 139 – 146. 1963

Chaparro, S.P; Efecto de diferentes procesos fisicoquímicos en la reducción de factores antinutricionales de la semilla de vitabosa (*Mucuna deeringiana*). Tesis Magíster en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Universidad Nacional de Colombia, Medellin 2009. 81 p.

Chaparro, S.P; Iván Darío Aristizábal I.D; y González J.H. Composición y factores antinutricionales de las granos del género mucuna Revista Facultad Nacional Agronomía .Medellín. 62(1): 4843-4853. 2009

Chaparro, Aristizabal y Gil. Reducción de factores antinutricionales de la semilla de vitabosa (Mucuna deeringiana) mediante procesos fìsico-químcos. Revista Facultad Nacional de Agronomía - Medellín, vol. 62, núm. 2, 2009, pp. 5157-5164 Universidad Nacional de Colombia . Encontrado en: http://www.redalyc.org/pdf/1799/179914590014.pdf.

Chel-Guerrero L, Scilingob A, Gallegos Tintore´S, Davila G, Añón MC . Physicochemical and structural characterization of Lima Bean (Phaseolus lunatus) globulins. LWT 40 (2007) 1537–1544

Corzo; L. Chel-Guerrero, L y Betancur D. Extracción de las fracciones de almidón y proteína del grano de la leguminosa Mucuna pruriens. Tecnol. Ciencia Ed. (IMIQ) vol. 15 núm. 1, México. 2000. Encontrado en: http://www.imiq.org/documentos/5102007182328.pdf. Consultado en Marzo de 2010

Croy, R. R. D., Gatehouse, J. A., Tyler M, Boulter, D, The purification and characterization of a third storage protein (convicilin) from the seeds of pea (Pisum sativum L.) Biochem J. (1980) 191, 509-516

Das Nilanjana, Kayastha A ; Malhotra O.P. Inmobilization of urease from pigeon pea (Cajanus Cajan L) in poliacrylamide gels and calicuim alginate beads. School of biotechnology faculty of science. BAranas Hindu University , Varanasi 221. 2005. India.

Das Nilanjana, Kayastha Arvin. Inmobilization of urease from pigeon pea (Cajanus Cajan L) on flannel clots using polyethyle neimine. World Journal of microboilogy and biotechnology. Springer. Netherlands. Vol 14 ·16 Nov 1998.

Del Carmen J.Gernat, A.G. Myhrman and Carew L.B. Evaluation of raw heated Velvet Bean (mucuna pruriens) as feed ingredients for broilers. Poultry Science 78:866-872. 1999

Derbyshire, E., Wright, D. J., and Boulter, D. (1976). Legumin and vicilin . Storage proteins of legume seeds. Phytochemistry, 15, 3–24.

Dudley-Cash W.A, Calidad de la harina de soja. Seminario de control de calidad de materia primas. IV jornada sobre control de calidad de harina de soja y soja integral. American Soybean Association. Sf.

Duranti M , Gius C . Legume seeds: protein content and nutritional value Field Crops Research 53 (1997) 31-45

Dust J. M , Grieshop C. M , Parsons C. M , Karr-Lilienthal L. K , Schasteen C. S , Quigley III J. D , Merchen N. R. , and. Fahey, G. C Jr. Chemical composition, protein quality, palatability, and digestibility of alternative protein sources for dogs. J. Anim. Sci. 2005. 83:2414–2422

Elizalde, A.D; Porrilla, Y.P; Chaparro D.C. Factores antinutricionales en semillas. Artículo original. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Vol 7 No. 1 Enero - Junio 2009. 10 p. Encontrado en http://www.unicauca.edu.co/biotecnologia/ediciones/vol7/FACTORES%20ANTINUTRICIONALES%20EN%20SEMILLAS.pdf . Consultado en marzo de 2010.

Emmert, J. L. and. Baker D, H. Protein quality assessment of soy products. Nutrition Research, Vol. 15, No. 1 I, pp. 1647-1656, 1995

Encalada M, P.A. Uso de frijol terciopelo *(Mucuna pruriens)* tostado y suplementado con vitamina B6 en raciones para pollos de engorde. Tesis (Ingeniero Agrónomo) Zamorano, Honduras 2002 23 p. Encontrado en: http://zamo-oti-02.zamorano.edu/tesis_infolib/2002/T1399.pdf Consultado en Marzo de 2010.

Ezeagu,I.E; B. Maziya-Dixon y Tarawali, G. Seed characteristics and nutrient and antinutrient composition of 12 *mucuna* accessions from nigeria Tropical And Subtropical Agroecosystems, 1 (2003): 129 – 139 Encontrado en: http://www.uady.mx/~veterina/publicaciones/journal/2002-2-3/Ezeagu%20et%20al-c.pdf Consultado en Marzo de 2010

FAO CORPORATE DOCUMENT REPOSITORY. Amino-acid content of foods. 1970, 295 p. Encontrado en;http://www.fao.org/docrep/005/ac854t/AC854T01.htm#prm Consultado en Marzo de 2010-

Ferreira, H. Evaluación del efecto del remojo, tostado y molido del frijol terciopelo *(Mucuna puriens)* en raciones para pollos de engorde. Tesis. Zamorano, Honduras, 2000 19 p. Encontrado en: http://zamo-oti-02.zamorano.edu/tesis_infolib/2000/T1177.pdf Consultado en Marzo de 2010.

Flores Ortega, L.A. Efecto del fríjol terciopelo (*Mucuna pruriens)* como fuente de proteína en la alimentación de cerdos en crecimiento. Tesis. Ingeniero Agrónomo. Zamorano Honduras 1997. 38p. Encontrado en: http://zamo-oti-02.zamorano.edu/tesis_infolib/1997/T720.pdf Consultado en Marzo de 2010

Gálvez, M.A; Flores, A.I; González, S.A.F. Capítulo 3. Proteínas. P 119 – 244. En: Badui, D. S.Química de alimentos. Pearson educacion, 4ta. Edición. Mexico. 2006. 716 P

Gallegos Tintoré S, Pacheco Aguirre J, Betancur Ancona D y Chel Guerrero L. Extracción y caracterización de las fracciones proteínicas solubles del grano de Phaseolus lunatus L. ALAN v.54 n.1 Caracas mar. 2004

Gorinstein S, Zemser M, Friedrnan M, Rodrigues WA, Martins PS, Vello NA, Tosello GA y Paredes López O. Physicochemical characterization of the structural stability of some plant globulins. Food Chemi.wy, Vol. 56, No. 2, pp. 131-138, 1996

Habiba RA. Changes in anti-nutrients, protein solubility, digestibility,and HCl-extractability of ash and phosphorus in vegetable peas as affected by cooking methods. Food Chemistry 77 (2002) 187–192

Hassan Nassiri Moghaddam, Mohsen Danesh Mesgaran, Hossein Jahanian Najafabadi y Rahman Jahanian Najafabadi. Determination of chemical composition , mineral contents and protein quality of Iranian kilka fish meal. International Journal of poultry Science 6 (5): 354 – 361, 2007

IX Encuentro de Nutrición y Producción en Animales Monogástricos, Montevideo, Uruguay, 2007. p 41 – 48 Encontrado en: http://www.fagro.edu.uy/~suinos/biblioteca/nutricion/N-Lon%20Wo%20-%20Procesos%20tecnologicos%20para%20elevar%20el%20valor%20nutritivo%20de%20los%20alimentos.pdf Consultado en Marzo de 2010.

Jaramillo, B. Aguirre, P.Evaluacion biológica de la proteína de harina de lombriz (eisenia foetida).Tesis.Universidad Nacional de Colombia. Medellín. 1.991.85p.

Johnson, M.L. and Parson, C.M. effects of raw material source, ash content, and assay length on protein efficiency ratio and net protein ratio values for animal proteins meal.1997. Poultry Science 76: 1722-1727.

Johnson O , Agbede y Valentine, A. Aletor. Studies of the chemical composition and protein quality evaluation of differently processed *Canavalia ensiformis* and *Mucuna pruriens* seed flours Journal of Food Composition and Analysis Volume 18, Issue 1, February 2005, Pages 89-103. Nigeria, Encontrado en: http://www.sciencedirect.com/science?_ob=PublicationURLy_tockey=%23TOC%236879%232005%23999819998%23530948%23FLA%23y_cdi=6879y_pubType=Jy_auth=yy_acct

=C000050221y_version=1y_urlVersion=0y_userid=10ymd5=1e34b8139ba3397c723fa7fdc2fd3a2f

Kadkade,P.G; Micheo, F; Luján C. Extraccion y fraccionamiento de proteínas de *Mucuna pruriens* P 52 -66. En: Leguminosas de Grano XVIII Reunión Anual...Serie de informes de conferencias cursos y reuniones N°1; Programa cooperativo para el mejoramiento en cultivos alimenticios. Fernandoo Rulfo V y Heleodoro Miranda Editores. Nicaragua Marzo 6 – 10, 1972. Encontrado en: http://books.google.com.co/books?id=UhJtAAAAIAAJyprintsec=frontcover#v=onepageyq=yf=false Consultado en Marzo de 2010.

Kwakernaak, C. and JD van der klis. PER value of four egg protein sources. ID-lelystad Animal nutrition. March 2003. Reportno 2213

Kwaku Ahenkora, M D. and Patterson O. Composition and functional properties of raw and heat processed velvet bean (Mucuna pruriens (L.) DC. Var utilis) flours. International Journal of Food Science and Technology 1999, 34, (2)131–135 . Encontrado en: http://www3.interscience.wiley.com/journal/119094986/abstract?CRETRY=1ySRETRY=0 Consultado en Marzo de 2010

Lawal, O.S; Adebowale, K.O; Ogunsanwo; B.M Sosanwo, O.A. Bankole S.A. On the functional properties of globulin and albumin protein fractions and flours of African locust bean (Parkia biglobossa), Food Chemistry 92 (2005) 681–691

Li, M.E; Campabadal, C; Rodríguez, J y Vargas, E. Efecto de diferentes tipos de tratamiento térmico sobre la calidad proteínica del fríjol gandul (*Cajanus caja*n) Agronomía. Costaricence 6(1/2): 27-33, 1982 Encontrado en: http://orton.catie.ac.cr/cgi-bin/wxis.exe/?IsisScript=AGROC.xisymethod=postyformato=2ycantidad=1yexpresion=mfn=000467. Consultado en Marzo de 2010.

Li, M.E; Campabadal, C y Vargas, E. Complementación del frijol gandul (*Cajanus cajan*) con harina de soya y pescado en dietas para ratas de laboratorio. Agronomía Costarricense. 5(1/2): 89-96, 1981. Encontrado en: http://www.mag.go.cr/rev_agr/v05n1-2_089.pdf. Consultado en Marzo de 2010.

Liener . Irvine. Toxic factors in edible legumes and their elimination. American Journal of Clinical Nutritions. Vol 11. 1962. 281 – 298.

Lon Wo, E Procesos tecnológicos para elevar el valor nutritivo de los alimentos. En: Machado, O. Valor nutricional de los alimentos elementos de evaluación y factores de calidad. Editorial Universidad de Antioquia. Medellín, 1.997 252 p.

Machuka, J. Characterization of the seed proteins of velvet bean (Mucuna pruriens) from Nigeria - properties and biomedical applications **.** Food Chemistry, Volume 68, Number 4, March 2000, pp. 421-427(7)

Mendel, Friedman. Nutritional value of proteins from different food sources. A review.Journal of agricultural and food chemistry , 1996, 44 (1) p 6 – 29. Encontrado en: http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf9400167 Consultado en Abril de 2010

Mitchell, H.H. A method of determining the biological value of protein. J. Biol. .Chem. 1924. 58: 873-903

Muelenaere, H,J,H. Rosalie S,Martin and M.G.Murdoch. Applicability to Chicks of the Carcass Analysis Method for Determination of Net Protein Utilization II. Effect of protein, calorie and fiber level.. 1964. J. Nutrition ,85: '65

Nadal,S; Moreno, M.T.; Cubero, J.I. Las leguminosas grano en la agricultura moderna. Mundi-prensa Libros. España. 2004. 318 p. Encontrado en: http://books.google.com.co/books?hl=esylr=yid=oPg-722dP8ACyoi=fndypg=PA27ydq=globulina+glutelinas+albuminas+guandulyots=irmRxaNIKqysig=JcYIFqpjBjb0mAEzH--nqf1QsrQ#v=onepageyq=yf=true Consultado en Marzo de 2010.

Naveeda K and Jamuna P. Nutritional quality of microwave-cooked and pressure-cooked legumes International Journal of Food Sciences and Nutrition . Volume 55, Number 6 . September 2004. 441 - 448

Neves Valdir A y Lourenço E. J Changes in protein fractions, trypsin inhibitor and proteolytic activity in the cotyledons of germinating Chickpea ALAN v.51 n.3 Caracas set. 2001

Nwokolo, E. Nutritional evaluation of pigeon pea meal Plant Foods for Human Nutrition 37:283-290 (1987)

Oliete Bonastre, Gomez Pallarés Manuel. Legumbres .De tales harinas tales panes: granos, harinas y productos de panificación en Iberoamérica Alberto Edel León... [et.al.]. ; edición literaria a cargo de: Alberto Edel León y Cristina Rosell. - 1a ed. - Córdoba : Hugo Báez Editor, 2007.480 p. ; 15x22 cm.

Olza, J; Porres, J; Urbano,G; Martínez de Victoria, E.y Gil,A. Evaluación biológica de la calidad de una mezcla de proteínas para uso en nutrición enteral. Nutrición Hospitalaria. v.23 n.3 p. 206 -211 Madrid mayo-jun. 2008 Encontrado en: http://scielo.isciii.es/pdf/nh/v23n3/original2.pdf Consultado en Marzo de 2010

Ortiz de Bertorelli Ligia y Ramírez Alejandra . Estudio electroforético de las albúminas y globulinas de cuatro genotipos de Canavalia ensiformis . ALAN v.50 n.1 Caracas mar. 2000

Panigrahi, J; Kumar,D. R; Mishra M; Mishra R. P; y Jena P. Genomic relationships among 11 species in the genus Cajanus as revealed by seed protein (albumin and globulin) polymorphisms. Articulo original. Plant Biotechnology Reports : Volume 1,

Number 2 / junio de 2007 p109–116 Encontrado en : http://www.springerlink.com/content/hr184257295h67jv/ Consultado en Marzo de 2010.

Parra V. B H. Tobon P. G P. Evaluación biológica de la calidad nutricional del polen. Tesis. Universidad Nacional de Colombia . Medellín. 1990. 56 p.

Parson, C.M. , Castanon, F. , and Han Y. Protein and amino acid quality of meat bone meal. 1997. Poultry Science 76:361-368

Posada, L:R. Evaluación nutricional de harinas de carne comercial de origen nacional utilizadas en dietas para pollos de engorde. Tesis Universidad Nacional de Colombia, Medellín. 2002. 81 p.

Pugalenthi M.; Vadivel , V..y Siddhuraju, P. Alternative Food/Feed Perspectives of an Underutilized Legume *Mucuna pruriens* var. *Utilis*—A Review. *Plant Foods for Human Nutrition* 60: 201–218, 2005. Encontrado en: http://www.springerlink.com/content/y06055777n230866/ Consultado en Marzo de 2010

Rubio L.A y Brenes A. Utilización de las leguminosas grano en nutrición animal y perspectivas. Barcelona XI Curso de especialización FEDNA 7 y 8 de Noviembre de 1995

Ruiz, B; Belmar, F.R; Mendoza, P; Rivera, J.A. Trejo,W. Herrera, J.G; Rojas, R.I; Llaven, M. O; Bautista, G.U. Pérez, M. Evaluación del frijol terciopelo (*Stizolobium deeringianum*) remojado, en dietas para cerdos en crecimiento. Universidad y ciencia trópico Húmedo. 25(2): 141-150. Mexico. 2009. Encontrado en:
http://www.publicaciones.ujat.mx/publicaciones/uciencia/agosto2009/4...446.pdf
Consultado en Marzo de 2010

Sáenz de Miera, LE., Ramos J., Y Pérez de la Vega M. (2008). A comparative study of convicilin storage protein gene sequences in species of the tribe Viciae. Genome, 51, 511-523.

Salinas, L.J. y Pulgarin A. Efecto de la adición de una fitasa de origen microbiano sobre la retención de nitrógeno de torta de algodón y girasol en pollos de engorde. Tesis . Universidad Nacional de Colombia . Medellín .. 2005. 43p.

Sathe Shridhar K. _, Venkatachalam Mahesh. Fractionation and biochemical characterization of moth bean(Vigna aconitifolia L.) proteins LWT 40 (2007) 600–610

Sauvaire YD, Baccou JD, Kobrehel K. Solubilization and characterization of fenugreek seed proteins. J Agric Food Chem. 1984; 32: 41-47.

Savón, V.L; Idania, S. Factores antinutricionales en recursos alimentarios tropicales para especies monogástricas. En: IX Encuentro de Nutrición y Producción en Animales Monogástricos, Montevideo, Uruguay, 2007. p. 93 – 97. Encontrado en

http://www.fagro.edu.uy/~suinos/biblioteca/nutricion/N-Savon%20-%20Factores%20antinutricionales%20en%20recursos%20alimentarios%20tropicales%20para%20especies%20monogastricas.pdf Consultado en Marzo 2010.

Segura-Nieto M, N Vasquez-Sánchez and R Rubioo Velásquez. Characterization of Amaranth (Amaranthus hypochondriacush L) seed proteins. J Agric y Food Chem. 1992; 9:1553-1558.

Shah, S.Basit, Ali. Nutritional evaluation of pigeon peas (Cajanus cajan) and its cooking characteristics. Tesis. (PhD) Division of biochemistry institute of chemistry. University of the Punjab, Lahore. 1991 260 p. Encontrado en: http://eprints.hec.gov.pk/1492/1/1374.HTM Consultado en Marzo de 2010.

Siddhuraju, P. and Becker K. Nutritional and antinutritional composition, in vitro amino acid availability, starch digestibility and predicted glycemic index of differentially processed mucuna beans (Mucuna pruriens var. utilis): an under-utilised legume. Food Chemistry 91 (2005) 275–286

Siddhuraju P, Vijayakumari k, and Janardhanan K. Chemical Composition and Protein Quality of the Little-Known Legume, Velvet Bean (Mucuna pruriens (L.) DC.) J. Agric. Food Chem., 1996, 44 (9), pp 2636–2641Encontrado en : http://es.scribd.com/doc/210577776/Chemical-Composition-and-Protein-Quality-Mucuna-Pruriens#scribd Consultado en Marzo 2010

Singh U. Antinutritional factors of chickpea and pigeon pea and their removal by processing. Plant foods for humans nutritions, 38:251 – 261 . (1988)

Singh; U; Protein quality of pigeon pea (Cajanus cajan (L.) Millsp.) as influenced by seed polyphenols and cooking process. Plant Foods for human Nutrition 43: 171 – 179 , 1993. India. Encontrado en : http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8386359 Consultado en Marzo de 2010.

Sing U and Eggum B.O. Factors affecting the protein quality of pigeonpea (*Cajanus cajan* L.) Qual Plant Plant Foods Hum Nutr 34 (1984) 2 73-283.

Singh, U; Jambunathan,R; Distribution of seed protein fractions and amino acids in different anatomical parts of chickpea (Cicer arietinum L.) and pigeonpea (Cajanus cajan L.). Qual Plan Plan Foods Hum Nutr 31:34 7-354 (1982).

Singh, U; Jambunathan,R; Saxena, K; Subrahmanyam, N. Nutritional quality evaluation of newly developed high-protein genotypes of pigeon pea (*Cajanus cajan*). Journal of the Science of Food and Agriculture. Volume 50 Issue 2, 1990. p. 201 – 209 . Encontrado en : http://www3.interscience.wiley.com/journal/113321040/abstract?CRETRY=1ySRETRY=0 Consultado en Marzo de 2010

Souza P.A.; Souza H.B. A; Santos J.E. ; Freitas O. Avaliaçao fisico-quimica e nutricional de graos de feijao guandu (Cajanus cajan (L) Mill sp) . Alim.Nutr. , Sao Paulo, v3, p.51-62, 1991.

Summer, JD and Fisher H. Net protein values for the growing chicken as determined by carcass analysis: Exploration of the method. Journal of nutrition 75: 1961 . 435 – 442.

Summer JD; Slinger SJ; Sibbald IR; and Pepper WF. Influence of protein and energy on growth and protein utilization in the growing chicken. The journal of nutrition. 82: 1964. P 463 – 468

Teixeira, A.A.; Rich, EC.; Szabo, N.J. Water extraction of L-dopa from Mucuna bean. Tropical and subtropical agroecosystem, 2003 Vol 1, N° 2-3 pp 151-171.

The United Nations University, Nutritional evaluation of protein foods. United Nations University Press 162 p. 1980 Japon Encontrado en: http://www.unu.edu/unupress/unupbooks/80129e/80129E00.htm Consultado en Marzo de 2010

Treviño, J, Rodriguez, M.L., Ortiz, L.T. Rebole,A.y Alzueta C. Protein quality of linseed for growing broiler chicks. Animal Feed Science and Technology 84 (2000) 155 -166

Vadivel,V y Pugalenthi, M. Biological value and protein quality of raw and processed seeds of *mucuna pruriens* var. *utilis* Livestock Research for Rural Development 19 (7) 2007. Department of Biotechnology, Karpagam Arts and Science College, India. Encontrado en :http://www.lrrd.org/lrrd19/7/vadi19097.htm Consultado en Marzo de 2009

Vadivel, V y Pugalenthi, M. Effect of various processing methods on the levels of antinutritional constituents and protein digestibility of *mucuna pruriens* (l.) dc. var. *utilis* (wall. ex wight) baker ex burck (velvet bean) seeds. Journal of food biochemistry 32 (2008) 795–812.

Vadivel, V; y Pugalenthi, M. Effect of soaking in sodium bicarbonate solution followed by autoclaving on the nutritional and antinutritional properties of velvet bean seeds. Journal of Food Processing and Preservation 33 (2009) 60–73. Encontrado en http://www3.interscience.wiley.com/journal/121651433/abstract Consultado en Marzo de 2010

Vivanco, D. F..Calidad del grano de frijol terciopelo (Mucuna pruriens) como suplemento proteico para rumiantes. Tesis Zamorano. Honduras , 1998 34 p. Encontrado en: http://zamo-oti-02.zamorano.edu/tesis_infolib/1998/T863.pdf. Consultado en Marzo de 2009

Wang, X. and Parsons, C.M. Effect of processing sistems on protein quality of feather meals and hog hair meals. 1997. Poultry Sciences 76:491-496.