

Universidad Católica de Santa María
Facultad de Ciencias Farmacéuticas,
Bioquímicas y Biotecnológicas
Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica



“DETERMINACIÓN DE LA COMPOSICIÓN Y LA DIGESTIBILIDAD *IN VIVO* DE LAS PROTEÍNAS PRESENTES EN EL POLVO DE HOJAS DE *MORINGA OLEÍFERA* (MORINGA) EN ANIMALES DE LABORATORIO *RATTUS NOVEGICUS*, AREQUIPA 2018”

Tesis presentada por las bachilleres:

Chino Lipa, Vanessa Nirsa

Condorena Paredes, Noemi Vanessa

Para optar el Título Profesional de:

Químico-Farmacéutica

Asesor:

Q.F. Torres Vela, Fernando

Arequipa – Perú

2019

UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARIA
Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas
y Biotecnológicas
Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica

Expediente N°. 16020247
N° Trámite en Fac. 1667-2016
Fecha 05-05-2016

FORMATO DE TITULACION PROFESIONAL

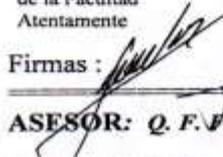
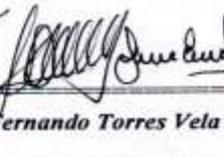
DE: CHINO LIPA, Vanessa Nirsa
CONDORENA PAREDES, Noemi Vanessa

TITULO DEL PROYECTO DE TESIS:

"DETERMINACION DE LA COMPOSICION Y LA DIGESTIBILIDAD in vivo DE LAS PROTEINAS PRESENTES EN EL POLVO DE HOJAS DE Moringa oleifera (Moringa) EN ANIMALES DE LABORATORIO Rattus norvegicus. AREQUIPA 2016"

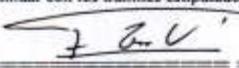
DICTAMINADORES: 1) Dr. Jaime Cárdenas García 2) Dr. José Villanueva Salas

DICTAMEN DE PLAN: Señor Decano de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas, en atención a su designación, como Dictaminadores del Plan de Tesis presentado por la recurrente, se ha procedido a la revisión del trabajo de investigación y hechas las observaciones y sugerencias correspondientes, consideramos que se encuentra APTO para continuar con los trámites estipulados en el Reglamento de Grados y Títulos de la Facultad
Atentamente

Firmas :   (Devolver antes de 8 días hábiles) Fecha 25/5/16

ASESOR: Q. F. Fernando Torres Vela

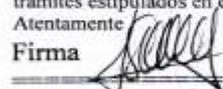
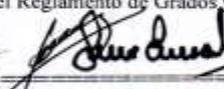
DICTAMEN DE ASESOR: Señor Decano de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas, en atención a su designación se ha asesorado el presente Trabajo de Investigación y después de efectuadas las observaciones, considero que el título debe cambiar a: "DETERMINACION DE LA COMPOSICION Y LA DIGESTIBILIDAD in vivo DE LAS PROTEINAS PRESENTES EN EL POLVO DE HOJAS DE Moringa oleifera (MORINGA) EN ANIMALES DE LABORATORIO Rattus norvegicus. AREQUIPA 2016" y luego de verificado el cumplimiento de los objetivos y la redacción del informe con los resultados, discusión y conclusiones correspondientes considero se encuentra APTO para continuar con los trámites estipulados en el Reglamento de Grados y Títulos de nuestra Facultad.
Atentamente

Firma  Fecha 04-06-2019

DICTAMINADORES BORRADOR DE TESIS:

- 1) Dr. Jaime Cárdenas García 3) Dr. Carlos Medina Pomareda
2) Dr. José Villanueva Salas

DICTAMEN DE BORRADOR: Señor Decano de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas, en atención a su designación, hemos procedido a revisar el Borrador de Tesis presentado por los recurrente, y luego de haber verificado el cumplimiento de los objetivos, la redacción del informe, de los resultados, discusión y conclusiones correspondientes, consideramos se encuentra APTO para continuar con los trámites estipulados en el Reglamento de Grados y Títulos de la Facultad.
Atentamente

Firma   (Devolver antes de 15 días hábiles) Fecha

JURADOS: Presidente DR. JAIME CARDENAS GARCIA
Vocal DR. JOSE VILLANUEVA SALAS
Secretario DR. CARLOS MEDINA POMAREDA

SUSTENTACIÓN DE TRABAJO:

Fecha: 6/11/19 Hora: 19.00 Local: C- 402 (SUM)


DECANO

Dedicatorias

A mis padres:

Que sin ellos no hubiera logrado una meta en mi vida profesional.

***Mama Nazaria,** gracias por estar a mi lado en esta etapa de mi pre grado, tu apoyo moral y entusiasmo que me brindaste para seguir adelante en mis propósitos.*

***Papa Antonio,** por el apoyo incondicional y tanto amor hacia mí, que me dieron fuerzas para seguir adelante, gracias.*

A mis maestros:

Por el tiempo y esfuerzo que dedicaron en compartir sus conocimientos. sin su instrucción profesional no hubiera logrado este propósito.

Por impartir cátedra de tal forma que lo aprendido sea utilizado en la vida real, por el apoyo brindado. Gracias.

Nirsa Vanessa Chino Lipa

*Dedico de manera especial a mis padres **Daniel** y **María** por haberme apoyado durante todo el tiempo, este logro se los debo a ustedes por todo el sacrificio y apoyo en mi formación académica. Me motivaron constantemente a nunca rendirme y poder alcanzar mis metas.*

*A mi esposo **Juan Carlos** por su apoyo moral cada día, sus palabras de alientos que no me dejaban caer y que siga adelante y siempre sea perseverante. Siempre creíste en mi capacidad y estuviste brindándome comprensión, cariño y amor.*

*A mi hija **Esmeralda** que es mi fuente de motivación e inspiración para seguir adelante, eres la niña de mis ojos que llegaste en el momento indicado.*

*A mis hermanos y demás familiares en general, especialmente a mis tíos **Calixto** y **Ricardina** quienes me brindaron su apoyo incondicional durante mi formación profesional.*

Noemi Vanessa Condorena Paredes

Agradecimiento

Gracias a Dios:

Por permitirme tener y disfrutar a mi familia, gracias a mi familia por apoyarme en cada decisión y proyecto, gracias a la vida porque cada día me demuestra que es la vida y lo justo que puede llegar a ser, gracias a mi familia por permitirme llegar a cumplir con excelencia en el desarrollo de esta tesis. Gracias por creer en mí y gracias a Dios por permitirme vivir y disfrutar cada día.

Nirsa Vanessa Chino Lipa

*En primer lugar a **Dios** por haberme guiado y dado sabiduría para seguir adelante.*

*A **mis padres** por ser los principales protagonistas de mis metas, por su amor incondicional que me demostraron que nunca dejaron de creer en mí.*

*A mi **esposo y mi hijita** por su paciencia, que son mi inspiración para poder alcanzar mis metas.*

*A mis hermanos **Norman, Maribel, Javier y María del Rosario**, que siempre me estuvieron dando alientos y fortaleza para no rendirme, sé que están muy orgullosos de mí.*

*A todos los **Docentes** de mi Facultad por acompañarme en toda mi formación profesional y el logro del mismo.*

Noemi Vanessa Condorena Paredes

INTRODUCCIÓN

Moringa oleífera, es una especie nativa de la India que crece en las regiones tropicales y subtropicales del mundo con capacidad de resistir tanto la sequía severa como las heladas leves. La Moringa es rica en nutrientes, de hecho, se dice que la moringa proporciona 7 veces más vitamina C que las naranjas, 10 veces más vitamina A que las zanahorias, 17 veces más calcio que la leche, 9 veces más proteínas que el yogur, 15 veces más potasio que los plátanos y 25 veces más hierro que espinacas (Rockwood y Casamatta, 2013). Cada parte del árbol es adecuada para fines específicos nutricionales o industriales.

El hecho de que la Moringa sea fácilmente cultivable la convierte en una alternativa sostenible para su uso en alimentación o industria. Los extractos de las hojas se usan para tratar la desnutrición, aumentar la leche materna en madres en etapa de lactancia, como potencial antioxidante, anticancerígeno, antiinflamatoria, antidiabética y antimicrobiana; por su parte la semilla de *Moringa oleífera* es usada como coagulante natural en el tratamiento del agua.

Por tanto, la presente investigación busca estudiar las proteínas presentes en el polvo de las hojas de Moringa con la finalidad de ser usadas como alimento directo, en formulados alimenticios o suplementos nutricionales, por ello es necesario conocer previamente la digestibilidad in vivo de dicho polvo en animales de experimentación.

Para ello, se cuantificó las proteínas presentes en el polvo de las hojas de Moringa y se formularon raciones alimenticias con alimento Balanceado (RAB), ración de contenido proteico de Moringa (RCPM), ración de contenido proteico de Caseína (RCPC) y ración de contenido proteico Moringa y Caseína (RCPMC) todas ellas a un 21% de proteína suministrado a cuatro grupos experimentales de ratas *Rattus novегicus* durante 21 días, evaluando índices biológicos como son Coeficiente de Eficacia de Crecimiento (CEC), Coeficiente de Digestibilidad Aparente (CDA), Coeficiente de Digestibilidad verdadera (CDV), Utilización Neta de Proteínas (NPU) y el Valor Biológico (VB).

La investigación es publicada y organizada de la siguiente manera, en el Capítulo I se presenta el marco teórico relacionado a *Moringa oleífera* su distribución, usos medicinales, farmacología, toxicología; proteínas, su definición clasificación, adsorción y digestibilidad.

En el Capítulo II, referido a materiales y métodos se detallan el tipo de investigación, material, reactivo y equipos de laboratorio empleados, así como los métodos aplicados para la evaluación de cantidad proteica y parámetros de digestibilidad in vivo.

El Capítulo III de resultados y discusiones abarca los resultados obtenidos de manera organizada para cada método propuesto y su correspondiente discusión para dar explicaciones a los fenómenos encontrados y comparar los valores obtenidos con otros trabajos de investigación en el área.

Finalmente es importante mencionar que la Moringa debido a su alto contenido proteico puede ser empleado para combatir la anemia y otras enfermedades, además es una alternativa de alimentación en animales de engorde; sin embargo, como ya se mencionó es de vital importancia el estudio de sus propiedades de digestibilidad para poder destinar de manera adecuada su concentración en las dietas y su frecuencia de consumo.

RESUMEN

La presente investigación buscó evaluar las proteínas presentes en el polvo de las hojas de *Moringa oleífera* (Moringa) la cual es conocida por sus propiedades medicinales y nutritivas, así mismo se estudió la digestibilidad en animales de experimentación.

Para ello, se procedió con la selección del material vegetal y la preparación de las hojas de moringa hasta una textura fina tipo polvo, se evaluó la cantidad de proteínas presentes mediante el método de Kjeldahl y con ello se procedió a realizar las raciones alimenticias mediante el método de cuadrado de Pearson obteniendo cuatro formulaciones: ración de alimento Balanceado (RAB), ración de contenido proteico de Moringa (RCPM), ración de contenido proteico de Caseína (RCPC) y ración de contenido proteico Moringa y Caseína (RCPMC) todas ellas a un 21% de proteína.

Para su evaluación se conformaron cuatro grupos experimentales con 5 animales *Rattus norvegicus* cada uno, estos fueron alimentados durante 21 días alimentados a la misma hora y recolectando sus heces dos veces al día, se controló la cantidad de alimento sobrante diario y el peso de heces diarias. Los índices biológicos calculados fueron el Coeficiente de Eficacia de Crecimiento (CEC), el Coeficiente de Digestibilidad Aparente (CDA), el Coeficiente de Digestibilidad verdadera (CDV), la Utilización Neta de Proteínas (NPU) y el Valor Biológico (VB).

Los resultados demostraron que *Moringa oleífera* (Moringa) presenta un 25.82% de proteínas presentes en las hojas secas. La digestibilidad in vivo para la ración que incorpora hojas de *Moringa oleífera* tuvo como índices de digestibilidad proteica los siguientes: CEC= 0.866; CDA= 82.95%; CDV= 84.8245%; NPU= 404.40% y un VB= 0.4776. Los métodos que se aplicaron fueron ANOVA y TUCKEY y otros parámetros estadísticos que ayudaron a los resultados obtenidos. The methods that were applied were ANOVA and TUCKEY and other statistical parameters that helped the results obtained.

La ración alimenticia con contenido proteico moringa (GRCPM), presenta índices de digestibilidad (CEC, CDA, CDV, NPU y VB) menores a los encontrados con una ración con caseína (GRCPC), pero el grupo con contenido proteico moringa-caseína (GRCPMC) a pesar de contener menor cantidad de caseína presento valores de digestibilidad de CEC= 1.02; CDA= 95.73%; CDV= 97.1%; NPU= 63.25% y un VB= 0.65, similares al grupo con ración de contenido proteico sólo de caseína (GRCPC).

Así mismo, el grupo con ración proteica moringa (GRCPM) presentó un CEC similar al grupo con alimento balanceado (GRCPAB) con CEC de 0.85, los demás parámetros de digestibilidad fueron menores, sin embargo, el grupo que recibió una ración alimenticia combinada de Moringa-Caseína (GRCPMC) superó el valor de CEC respecto al alimento balanceado y en los otros parámetros como CDA, NPU y VB, fueron similares al alimento Balanceado.

Palabras Claves:

Moringa oleífera, proteína, digestibilidad, parámetros de digestibilidad.

ABSTRACT

The present investigation had the purpose of evaluating proteins present in *Moringa oleifera* (Moringa) leaves powder, which is known for its medicinal and nutritive properties, likewise, in vivo digestibility was studied in experimental animals.

For it, we proceeded with the selection of plant material and the preparation of the Moringa leaves until a fine texture type powder, the amount of proteins present was evaluated using the Kjeldahl method and with this, the food rations were carried out using Pearson's square method, obtaining four formulations: balanced feed ration (RAB), Moringa Protein Content Ration (RCPM), Casein Protein Content Ration (RCPC) and Moringa and Casein Protein Ration (RCPMC) all of them with 21% of protein

Four experimental groups with 5 animals *Rattus norvegicus* each were formed for its evaluation, these were fed during 21 days at the same time and collecting their feces twice a day, and controlled the amount of excess daily food and the weight of daily feces. The biological indices calculated were the Growth Effectiveness Coefficient (CEC), the Apparent Digestibility Coefficient (ADC), the true Digestibility Coefficient (CDV), the Net Protein Utilization (NPU) and the Biological Value (VB).

The results showed that *Moringa oleifera* (Moringa) presents a 25.82% of proteins in the leaves. In vivo digestibility for the ration incorporating *Moringa oleifera* leaves had the following protein digestibility indices: CEC = 0.866; CDA = 82.95%; CDV = 84.8245%; NPU = 404.40% and one VB = 0.4776.

The food ration with Moringa protein content (GRCPM), has digestibility indexes (CEC, CDA, CDV, NPU and VB) lower than those found with a ration with casein (GRCPC), but the group with protein content Moringa-casein (GRCPMC) despite containing a lower amount of casein, showed ECC digestibility values = 1.02; CDA = 95.73%; CDV = 97.1%; NPU = 63.25% and a VB = 0.65, similar to the group with a protein-only ration of casein (GRCPC).

Likewise, the group with Moringa protein ration (GRCPM) presented a CEC similar to the group with balanced feed (GRCPAB) with CEC of 0.85, the other parameters of digestibility were lower, however, the group that received a combined food ration of Moringa -casein (GRCPMC) exceeded the CEC value with respect to the balanced feed and in the other parameters such as CDA, NPU and VB, they were similar to the balanced feed.

Palabras Claves:

Moringa oleífera, protein, digestibility, digestibility parameters.



ÍNDICE

INTRODUCCIÓN

RESUMEN

ABSTRACT

OBJETIVOS

HIPÓTESIS

CAPÍTULO I.....1

MARCO TEÓRICO1

1.1. MORINGA.....1

1.1.1. NOMBRES CIENTÍFICOS1

1.1.2. NOMBRES POPULARES1

1.1.3. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA1

1.1.4. HÁBITAT1

1.1.5. HISTORIA2

1.1.6. USOS MEDICINALES ATRIBUIDOS2

1.1.7. OTROS USOS POPULARES2

1.1.8. FARMACOLOGÍA EXPERIMENTAL.....3

1.1.9. COMPOSICIÓN QUÍMICA.....4

1.1.10. FARMACOGNOSIA.....4

1.1.11. TOXICOLOGÍA5

1.1.12. INDICACIONES FITOTERAPÉUTICAS5

1.2. PROTEÍNAS.....5

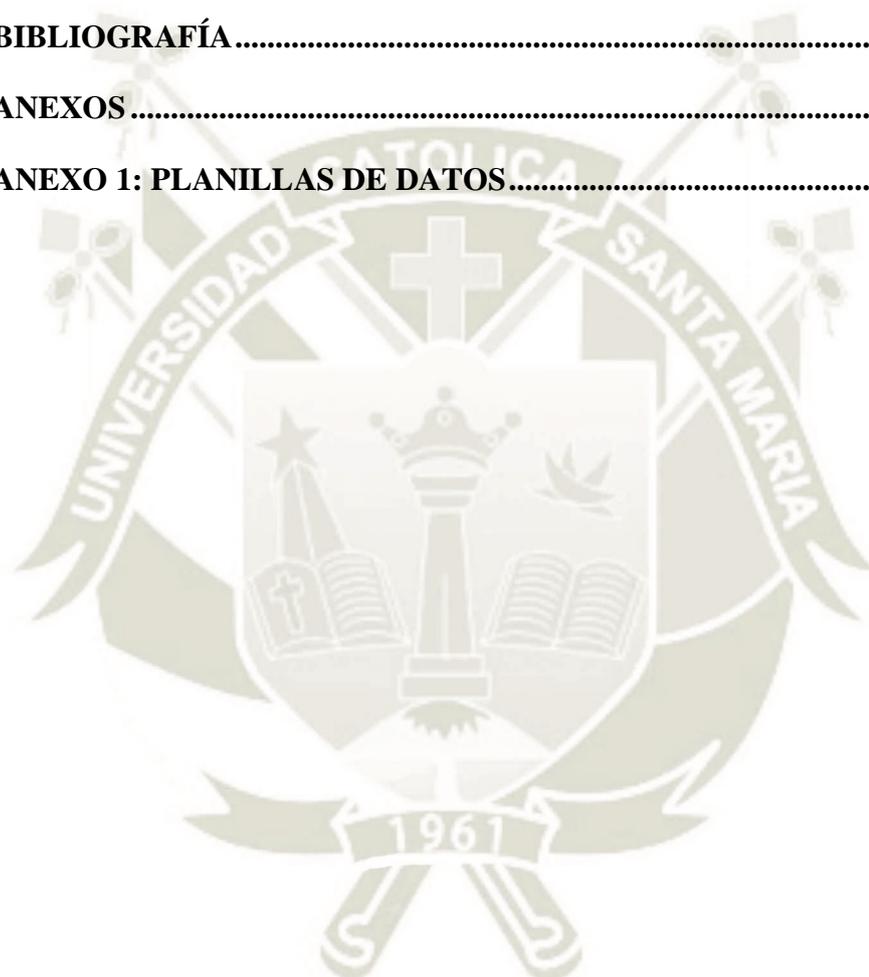
1.2.1. FUNCIONES DE LAS PROTEÍNAS EN EL ORGANISMO7

1.2.1.1 PROVISIÓN DE ESTRUCTURA.....7

1.2.1.2	MANTENIMIENTO Y CRECIMIENTO.....	7
1.2.1.3	REGULACIÓN DE PROCESOS CORPORALES	9
1.2.1.4	INMUNIDAD	10
1.2.1.5	CIRCULACIÓN	10
1.2.1.6	FUENTE DE ENERGÍA.....	10
1.2.2.	CLASIFICACIÓN DE LAS PROTEÍNAS ALIMENTICIAS	11
1.2.2.1	PROTEÍNAS COMPLETAS	12
1.2.2.2	PROTEÍNAS INCOMPLETAS.....	12
1.2.3.	DIGESTIÓN Y ABSORCIÓN DE PROTEÍNAS	13
CAPÍTULO II.....		18
MATERIALES Y MÉTODOS.....		18
2.1.	TIPO DE INVESTIGACIÓN.....	18
2.2.	ÁREA DE INVESTIGACIÓN	18
2.3.	MATERIALES DE LABORATORIO.....	18
2.3.1.	MATERIAL DE LABORATORIO	18
2.3.2.	EQUIPOS DE LABORATORIO.....	18
2.3.3.	REACTIVOS	18
2.3.4.	OTROS.....	19
2.4.	MATERIAL BIOLÓGICO	19
2.4.1.	MATERIAL VEGETAL.....	19
2.4.2.	ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN	19
2.5.	MÉTODOS APLICADOS	20
2.5.1.	DETERMINACION DEL CONTENIDO PROTEICO	
	DE MORINGA	20
2.5.1.1	PREPARACION DE LAS HOJAS SECAS DE MORINGA.....	23

2.5.1.2 DETERMINACIÓN DE PROTEÍNAS MEDIANTE EL MÉTODO DE KJELDAHL.....	24
2.5.1.2.1 FUNDAMENTO DEL METODO DE KJELDAHL.....	24
2.5.1.2.2 PROCEDIMIENTO DE PROTEÍNAS.....	24
2.5.2 FORMULACION DE RACIONES ALIMENTICIAS.....	25
2.5.2.1 FUNDAMENTO DEL METODO DE CUADRADO DE PEARSON.....	25
2.5.2.2 PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACION DE LAS RACIONES	26
2.5.3 EVALUACIÓN DE LA DIGESTIBILIDAD PROTEICA.	24
2.5.3.1 UNIFORMIDAD DE CONDICIONES DE EXPERIMENTACIÓN.....	24
2.5.3.2 CONFORMACIÓN DE GRUPOS EXPERIMENTALES ...	25
2.5.3.3 ÍNDICES BIOLÓGICOS PARA DETERMINAR LA DIGESTIBILIDAD PROTEICA	26
CAPÍTULO III.....	30
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	30
3.1. DETERMINACIÓN DE PROTEINAS	30
3.2. ELABORACIÓN DE LAS RACIONES CON MORINGA.....	32
3.2.1. RACIÓN CONTENIDO PROTEICO MORINGA (RCPM).....	33
3.2.2. RACIÓN CONTENIDO PROTEICO CASEÍNA (RCPC)	34
3.2.3. RACIÓN CONTENIDO PROTEICO MORINGA Y CASEÍNA (RCPMC)	35
3.3. EVALUACIÓN DE LA DIGESTIBILIDAD PROTEICA.	36
3.3.1. COEFICIENTE DE EFICACIA DE CRECIMIENTO (CEC)	37
3.3.2. COEFICIENTE DE DIGESTIBILIDAD APARENTE (CDA).....	43

3.3.3. COEFICIENTE DE DIGESTIBILIDAD VERDADERA (CDV)..	49
3.3.4. UTILIZACIÓN NETA DE PROTEÍNAS (NPU).....	55
3.3.5. VALOR BIOLÓGICO (VB).....	60
CONCLUSIONES.....	64
SUGERENCIAS.....	65
BIBLIOGRAFÍA.....	66
ANEXOS.....	72
ANEXO 1: PLANILLAS DE DATOS.....	73



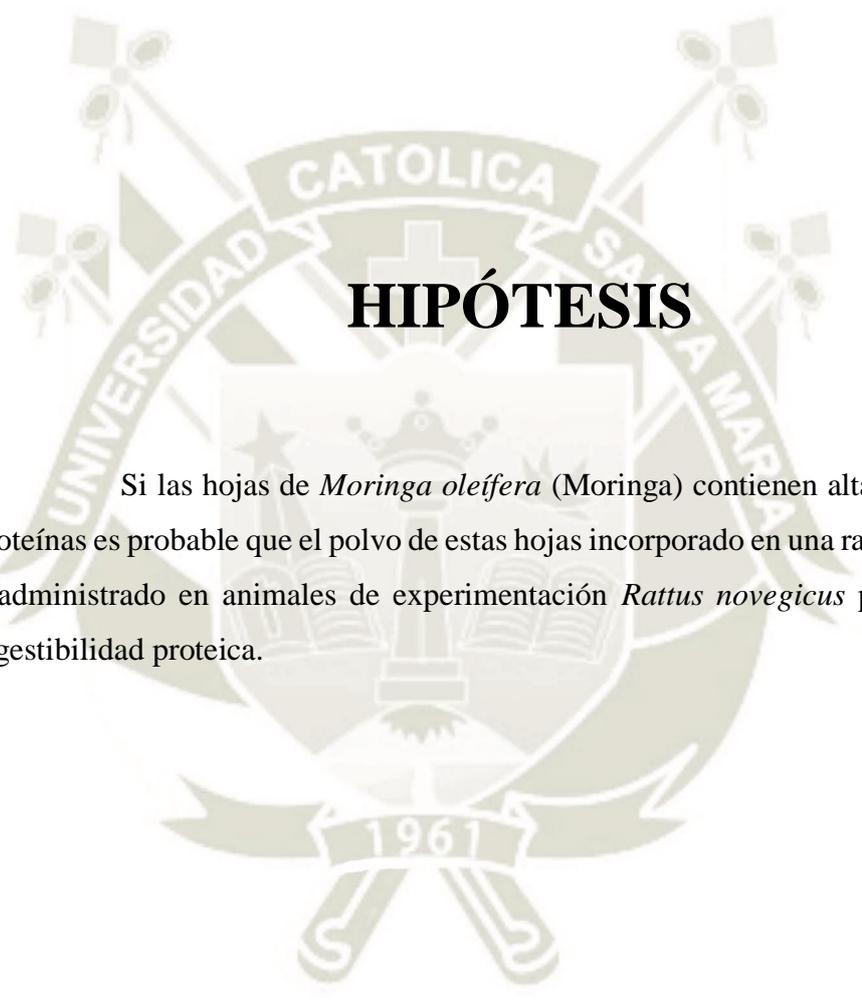
ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1. Moringa oleifera.....	1
Figura 1.2. Estructura química de la proteína.....	6
Figura 1.3. Digestión y absorción de la proteína.....	17
Figura 2.1. Procedimiento para determinar proteínas mediante el Método Kjeldahl.....	22
Figura 2.2. Digestión del polvo de las hojas de moringa por el Método Kjeldahl.....	22
Figura 2.3. Destilación del polvo de las hojas de moringa por el método Kjeldahl	23
Figura 2.4. Sacrificio y retiro de pelaje.....	28
Figura 2.5. Carcasa de Rattus Novegicus.....	28
Figura 2.6. Carcasa molida de Rattus Novegicus.....	28
Figura 3.1. Gráfica para el Coeficiente de Eficacia de Crecimiento (CEC) de las raciones experimentales	40
Figura 3.2. Gráfica para Coeficiente de Digestibilidad Aparente (CDA) de las raciones experimentales	45
Figura 3.3. Gráfica de para Coeficiente de Digestibilidad Verdadera (CDV) de las raciones experimentales.....	51
Figura 3.4. Muestra de la carcasa de Rattus Novegicus.....	
Figura 3.5. Gráfica para la Utilización Neta de Proteínas (NPU) de las raciones experimentales.....	58
Figura 3.6. Gráfica para el Valor Biológico de Proteínas (VB) de las raciones experimentales.....	62

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 3.1 Contenido proteico (%) para el polvo de hojas de <i>Moringa Oleífera</i>	30
Tabla 3.2 Fórmula alimenticia general para la determinación de raciones.....	33
Tabla 3.3 Método de Pearson para la ración contenido proteico de Moringa...	34
Tabla 3.4 Fórmula alimenticia final para la ración contenido proteico Moringa	34
Tabla 3.5 Método de Pearson para la ración contenido proteico de Caseina....	35
Tabla 3.6 Fórmula alimenticia final para la ración contenido proteico Moringa	35
Tabla 3.7 Método de Pearson para la ración contenido proteico de Moringa y Caseina	36
Tabla 3.8 Fórmula alimenticia final para la ración contenido proteico Moringa y Caseina.....	36
Tabla 3.9 Coeficiente de Eficacia de Crecimiento (CEC) de las raciones experimentales.....	38
Tabla 3.10 Estadística descriptiva del Coeficiente de Eficacia de Crecimiento (CEC) de las raciones experimentales.....	39
Tabla 3.11 Análisis de varianza del Coeficiente de Eficacia de Crecimiento (CEC) de las raciones experimentales.....	41
Tabla 3.12 Comparaciones múltiples mediante Tuckey para el coeficiente de eficacia de crecimiento (CEC) de las raciones experimentales.	
Tabla 3.13 Coeficiente de Digestibilidad Aparente (CDA) de las raciones experimentales.....	44
Tabla 3.14 Estadística descriptiva para el Coeficiente de Digestibilidad Aparente (CDA) de las raciones experimentales.....	45
Tabla 3.15 Análisis de varianza para el Coeficiente de Digestibilidad Aparente (CDA) de las raciones experimentales.....	46
Tabla 3.16 Comparación múltiples mediante Tuckey para el coeficiente de digestibilidad aparente (CDA) de las raciones experimentales.....	

Tabla 3.17 Coeficiente de Digestibilidad Verdadera (CDV) de las raciones experimentales.....	50
Tabla 3.18 Estadística descriptiva del Coeficiente de Digestibilidad Verdadera (CDV) de las raciones experimentales	51
Tabla 3.19 Análisis de varianza del Coeficiente de Digestibilidad Verdadera (CDV) de las raciones experimentales	52
Tabla 3.20 Comparaciones múltiples mediante Tuckey para del Coeficiente de Digestibilidad Verdadera (CDV) de las raciones experimentales	
Tabla 3.21 Utilización Neta de Proteínas (NPU) de las raciones experimentales	56
Tabla 3.22 Estadística descriptiva de la Utilización Neta de Proteínas (NPU) de las raciones experimentales	57
Tabla 3.23 Análisis de varianza de la Utilización Neta de Proteínas (NPU) de las raciones experimentales	57
Tabla 3.24 Comparaciones múltiples mediante Tuckey para la Utilización neta de proteínas (NPU) de las raciones experimentales	
,Tabla 3.25 Valor Biológico de Proteínas (VB) de las raciones experimentales	60
Tabla 3.26 Estadística descriptiva del Valor Biológico de Proteínas (VB) de las raciones experimentales	60
Tabla 3.27 Análisis de varianza del Valor Biológico de Proteínas (VB) de las raciones experimentales.....	61
Tabla 3.28 Comparaciones múltiples mediante Tuckey para Valor Biológico de Proteínas (VB) de las raciones experimentales	



HIPÓTESIS

Si las hojas de *Moringa oleífera* (Moringa) contienen altas cantidades de proteínas es probable que el polvo de estas hojas incorporado en una ración alimenticia y administrado en animales de experimentación *Rattus norvegicus* presenten buena digestibilidad proteica.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

**DETERMINAR EL CONTENIDO Y
LA DIGESTIBILIDAD *IN VIVO* DE
LAS PROTEÍNAS PRESENTES EN
EL POLVO DE HOJAS DE *MORINGA*
OLEÍFERA (MORINGA) EN
ANIMALES DE LABORATORIO
RATTUS NOVEGICUS. AREQUIPA
2018.**

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar el contenido proteico de las hojas secas de *Moringa oleífera* (Moringa).
2. Formular las raciones alimenticias con *Moringa oleífera* (Moringa) cumpliendo el requerimiento diario proteico para ratas de laboratorio.
3. Evaluar la digestibilidad de las proteínas presentes en el polvo de las hojas de *Moringa oleífera* (Moringa) incorporadas en la dieta de animales de experimentación *Rattus norvegicus*.
4. Comparar las raciones alimenticias de los diferentes grupos.



CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

1.1. MORINGA

1.1.1. Nombres científicos

Moringa oleífera Lam, *Moringa pterygosperma* Gaertn.; *M. moringa* Millsp.; *Guilandina moringa* Lam.; *Hyperanthera moringa* Willd^(1,2,3).

1.1.2. Nombres populares

Arango, Badumbo, Paraiso blanco, brotón, caragua, caraño, marengo, perlas, sasafrás, teberindo^(1,2).

1.1.3. Descripción botánica

Árbol pequeño, 5-10 m de altura, tronco 25-30 cm de diámetro, corteza blanquecina; raíces ligeras y gruesas. Hojas compuestas, finamente divididas (bi o triptinadas), 30-45 cm de largo, alternas; foliolo 5-20 mm de largo, elípticos. Inflorescencia en panículo lateral, 10-20 cm de largo con muchas flores: 5 sépalos y 5 pétalos blancos. Fruto en capsula colgante, seca, marrón, tres ángulos, 17-55 cm de largo. Semilla alada, carnosa, marrón, 1.5-3.2 cm de diámetro, endospermo blanquecino, muy oleaginoso⁽⁴⁾.



Figura 1.1 *Moringa oleifera* (Moringa)

1.1.4.Hábitat

Originario de los Himalayas occidentales en Asia y norte de África, se cultiva en varios países tropicales hasta 1200 msnm e incluso se ha adaptado a regiones desérticas como el Sahara. En Guatemala es cultivado en clima cálido ⁽⁵⁾.

1.1.5.Historia

Se cultiva en la India desde tiempos prehistóricos. Según los textos médicos de la India es la planta a la que se le atribuye más propiedades medicinales ⁽⁵⁾.

1.1.6.Usos medicinales atribuidos

La corteza fresca se usa como antídoto contra picadura de insectos y veneno de serpientes; los frutos se consideran afrodisiacos y la decocción de la raíz se usa contra la viruela. La raíz se usa en parálisis, fiebre, epilepsia, reumatismo y gastralgia; los frutos en trastornos del hígado y bazo. La infusión de la almendra de la semilla es purgante y febrífugo. La tintura de raíz seca se usa para edema causado por malaria y como linimento para reumatismo. Es un remedio popular para ascitis, asma, catarro, cólera, convulsiones, disentería, dolor de oído, epilepsia, fiebre, gota, inflamación, neuralgia, neumonía, reumatismo, espasmos, sífilis, tos, dolor dental, tumores, úlceras y fiebre amarilla ⁽⁶⁾.

A las flores, hojas y raíz se les atribuye propiedad abortiva, bactericida, colagoga, depurativa, diurética, ecbólica, emética, estrogénica, expectorante, purgante, rubefaciente, estimulante, tónica y vermífuga ⁽⁷⁾.

Se dice que la raíz es laxante, diurética, enriquece la sangre y cicatriza las úlceras gingivales. Las hojas se usan para el escorbuto, catarro y como purgante, el jugo es emético. La corteza del tallo y raíz es estimulante, diurética y antiescorbútica; se usa para el corazón, tos y otros desordenes; su jugo se toma contra el asma, gota, lumbago, reumatismo e inflamaciones ⁽⁷⁾.

Tópicamente el aceite de semillas se aplica en gota, reumatismo, en quemaduras, induraciones, tumores y otras afecciones de la piel. La corteza se aplica como conirritante en diversos dolores ⁽⁷⁾.

1.1.7.Otros usos populares

En Sudan los habitantes purifican y potabilizan el agua a nivel doméstico por medio de un polvo de semillas usando tecnología apropiada. El aceite se usa en perfumería, como fijador y lubricante de maquinaria fina, es muy resistente al enranciamiento, la goma de la corteza tiene buenas cualidades para pegar. Las hojas se comen cocidas y las raíces frescas se usan para condimentar diversos alimentos. El árbol se siembra como cerco vivo y sombra de café, se usa como forraje para animales, las hojas y flores se comen cocidas, la ceniza de la corteza se usa para hacer jabón, las flores se usan para adornar altares, el tronco se usa para leña de encendido rápido y para construcciones rurales ^(5,7).

1.1.8.Farmacología experimental

Estudios antimicrobianos demuestran que los extractos tienen actividad contra bacterias *E.coli* y *S.aureus*, las infusiones de las hojas y semillas frescas son activas además contra *P.aeruginosa* y *S.pyogenes* y algunos hongos, aunque no presenta actividad antidermofítica. Una pomada a base del extracto clorofórmico de semillas redujo el tiempo de curación de la piodermia experimental inducida por *S.aureus* en ratas rasuradas. La corteza no tiene actividad antimalarica ⁽⁷⁾.

Estudios farmacológicos demuestran que la infusión de semillas tiene actividad diurética en dosis de 1000 mg/kg en rata y espasmolítico en fleon aislado de rata a dosis de 750 mg/kg. El extracto acuoso de hojas por vía intravenosa tiene actividad hipotensora, estimula el corazón aislado de conejo, produce bloqueo neuromuscular y provoca sedación de animales conscientes. La raíz ha demostrado actividad hipoglucémica ⁽⁷⁾.

El extracto de corteza de raíz tiene actividad antiinflamatoria medida por tres métodos de inducción de la inflamación, sugiriéndose un modo de acción similar a la adrenalina, otro estudio demuestra que inhibe el edema por carragenina en rata, la infusión de semillas es antiinflamatoria con relación dosis-efecto (1000 mg/kg), la infusión de raíz y la de flores también (750 mg/kg); los otros órganos no mostraron actividad; el principio responsable se extrae en mayor cantidad con cloroformo. El extracto acuoso de raíz produce una curación más rápida en heridas inducidas experimentalmente ⁽⁷⁾.

La decocción de raíces tiene un efecto anti fertilidad, ya que presenta un efecto estrogenico, hay cambios en la histoarquitectura del ovario e interferencia con la formación de decíduoma en un 50%, otro estudio demuestra que el ovario de ratas durante el embarazo temprano tratadas con 200 mg/kg se mantuvo en condiciones cíclicas, como un cuerpo recién formado, los cuerpos lúteos se mantuvieron compactos, los folículos de Graf en diferentes etapas de desarrollo, por lo que se postula que la actividad debe estar relacionada con la trompa de Falopio, se concluye que las causas son múltiples ⁽⁷⁾.

1.1.9.Composición química

Las semillas contienen 25-30% de aceite, glicosidos (moringina), pterigospermina y 4-(α -L-ramnosiloxi) benzilisocianato y trazas de alcaloides. La corteza de la raíz contiene β -sitosterol trazas de alcaloides, afomina, espiroquina y gomas. Las hojas y flores contienen aminoácidos, quercetina, vitaminas y minerales. La goma del tallo contiene dextrina, basorina, enzimas (emulsina, mirosina) y un alcaloide (moringenina) ⁽⁷⁾.

Las hojas secas contienen humedad (8.4%), cenizas (12.5%) nitrógeno total (3.3%), proteínas (20.6%), fibra cruda (3.8%), extracto etéreo (9.0%) y extracto no nitrogenado (45.6%) ⁽⁷⁾.

1.1.10.Farmacognosia

Los órganos usados medicinalmente son la corteza, raíz y semillas, que deben reunir las mismas características fisicoquímicas y sanitarias de la materia prima usada para la elaboración de productos Fitofarmacéuticos. En la revisión de la literatura realizada se encontró información sobre la relación entre la actividad farmacológica atribuida y la composición química, no se encontraron estudios tendientes a la formulación de productos Fitofarmacéuticos ^(5,7).

El aceite de la almendra (aceite de Ben) tiene un rendimiento de 30-25%, es transparente, sabor ligeramente dulce, densidad 0.899-0.912, índice de refracción 1.4652; la extracción en frío da menor rendimiento, pero mejor calidad, la extracción en caliente da más rendimiento, pero de menor calidad; es un aceite que no se enrancia fácilmente; se utiliza en perfumería, en la industria farmacéutica y como lubricante ⁽⁷⁾.

La actividad antibiótica se asocia a pterigospermina y otros compuestos que se extraen mejor por la acción del ácido ascórbico. La pterigospermina similar a 4(α -L-ramnosil) bencil isotiacianato es el producto de condensación de dos moléculas de bencilisotiacianato con una molécula de benzoquinona; tiene potente actividad antibiótica y antimicótica; la tiamina y ácido glutámico antagonizan con su actividad antibiótica, mientras que piridoxina la aumenta. Otro principio antibiótico de las semillas es la atomina, activa contra *V.cholerae*; en la raíz se encuentra espiroquina que tiene actividad profiláctica y antiséptica contra *S.aureus*, aun en altas diluciones (1:70000), promueve la epitelización y presenta actividad analgésica y antipirética ⁽⁸⁾.

1.1.11.Toxicología

La planta se considera segura por pruebas toxicológicas en varias especies de animales, tanto por administración oral como intravenosa. Los cotiledones son tóxicos a peces y protozoos por inhibición de la acetilcolinesterasa, aunque sin riesgo para la salud humana en las concentraciones usadas. Estudios sobre la toxicidad crónica de las semillas no demuestran alteraciones histológicas en 28 órganos examinados. La DL 50 de pterigospermina por vía oral en ratón es 400 mg/kg, en dosis mayores los animales mueren por paro respiratorio; la DL 50 de espiroquina por vía intravenosa en ratón es 350 mg/kg ⁽⁸⁾.

1.1.12.Indicaciones Fitoterapéuticas

Por su actividad antiinflamatoria, antiséptica y cicatrizal su uso tópico está indicado en el tratamiento de quemaduras, heridas, piodermias y otras afecciones de la piel. Se aplica el aceite o infusión de semillas o raíz en forma de compresas, lavados o cataplasma; el aceite puede entrar en preparaciones Fitofarmacéuticas o cosméticas ⁽⁸⁾.

1.2. PROTEÍNAS

Las proteínas de la dieta son la fuente primaria de los aminoácidos, que permiten al organismo la síntesis de proteínas que intervienen en su estructura orgánica y en su función. El equilibrio armónico de las funciones vitales requiere de la participación de numerosos y variados compuestos proteínicos: mientras unos participan como proteínas de recambio, otros ejercen funciones protectoras (inmunoproteínas) y unos más intervienen en la regulación y mantenimiento de la

homeostasis, como hormonas y enzimas. Las proteínas son también sustancias imprescindibles en el crecimiento de las células y en la reparación o restitución de aquellas dañadas o muertas. En circunstancias extremas pueden proporcionar energía, a razón de 4 kcal/g ⁽⁹⁾.

Una de las singularidades químicas de las proteínas es su elevado peso molecular (pm). A diferencia de compuestos como la glucosa, cuyo pm es de 180, las proteínas tienen un peso molecular elevado, algunas pueden exceder un millón. Esto se debe a que están formadas por largas cadenas de aminoácidos en cuya composición interviene el hidrógeno, el oxígeno, el carbono y el nitrógeno; éste último es el elemento distintivo de las proteínas ⁽¹⁰⁾.

Las plantas sintetizan los aminoácidos captando el nitrógeno (y el azufre) a partir de sales nitrogenadas (o azufradas) del suelo; el hidrógeno y el oxígeno los provee el agua y el carbono lo proporciona el dióxido de carbono de la atmósfera. Con todos estos elementos las plantas sintetizan los aminoácidos mediante la participación simbiótica de bacterias y hongos. Por su parte, los animales y el hombre, sintetizan sus propias proteínas a partir de productos resultantes del metabolismo de los alimentos de origen vegetal. Así pues, la fuente original de las proteínas es el reino vegetal ⁽¹⁰⁾.

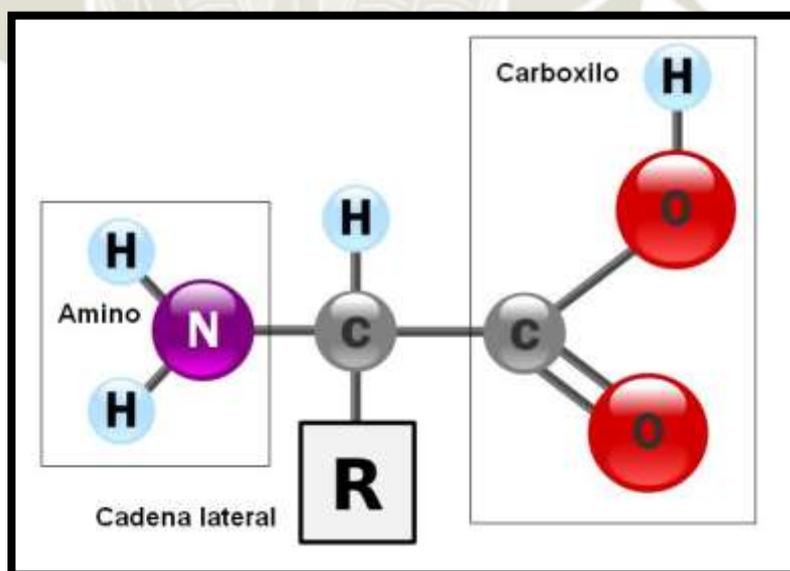


Figura 1.2 Estructura química de la proteína

1.2.1. Funciones de las proteínas en el organismo

1.2.2. Provisión de estructura

Las proteínas proporcionan gran parte de la masa corporal. Las proteínas contráctiles, actina y miosina, se encuentran en los músculos. Las proteínas fibrosas, como el colágeno, elastina y queratina, se encuentran en los vasos sanguíneos, hueso, cartílago, pelo, uñas, tendones, piel y dientes ⁽¹¹⁾.

1.2.3. Mantenimiento y crecimiento

Debido a que la proteína forma parte de cada célula (mitad del peso seco), tanto adultos como niños requieren de una ingesta adecuada de proteínas. A medida que las células del cuerpo se desgastan, éstas deben reemplazarse ⁽¹²⁾.

Anabolismo y catabolismo

El anabolismo es el desarrollo de tejidos como el que ocurre durante el crecimiento o la sanación. El catabolismo es la degradación de tejidos en sustancias más sencillas que el cuerpo puede reutilizar o eliminar ⁽¹²⁾.

Ambos procesos ocurren de manera simultánea dentro del cuerpo. Por ejemplo, las proteínas hícticas (de tejido) constantemente se degradan en aminoácidos que después se reutilizan para desarrollar tejidos nuevos y para reparar tejidos viejos. No obstante, el anabolismo y el catabolismo no siempre se encuentran en equilibrio; en ocasiones, un proceso puede dominar al otro ⁽¹²⁾.

Equilibrio del nitrógeno

Los alimentos o nutriciones artificiales que contienen proteínas son las únicas fuentes externas de nitrógeno del cuerpo. El nitrógeno se excreta en orina, heces y sudor y, en ocasiones, se pierde a través de hemorragias o vómito. Una persona se encuentra en un equilibrio o balance de nitrógeno cuando la cantidad de nitrógeno que ingiere equivale a la cantidad que excreta. Un adulto sano con un peso corporal estable por lo general se encuentra en un balance de nitrógeno. No obstante, bajo ciertas circunstancias, el balance de nitrógeno puede ser positivo o negativo ^(10,13).

Balance Positivo de Nitrógeno

Una persona que consume más nitrógeno del que excreta se encuentra en un balance positivo de nitrógeno. El cuerpo desarrolla más tejidos de los que degrada,

un estado deseable durante periodos de crecimiento como la lactancia, infancia, adolescencia y el embarazo ^(10,13).

Balance Negativo de Nitrógeno

Una persona que consume menos nitrógeno del que excreta se encuentra en un balance negativo de nitrógeno. Este tipo de individuo está recibiendo una cantidad insuficiente de proteínas y el cuerpo degrada más tejidos de los que fabrica. Las situaciones que se caracterizan por un balance negativo de nitrógeno incluyen hiponutrición, enfermedad y traumatismos. Incluso los voluntarios sanos pierden tejidos cuando están postrados en cama por semanas. La adecuada complementación nutricional no sólo puede preservar la musculatura esquelética, también puede minimizar las pérdidas funcionales provocadas por la inactividad prolongada ^(10,13).

Aquellos pacientes que reciben una alimentación inadecuada, en ocasiones por días, a causa de tratamientos o pruebas diagnósticas se encuentran en riesgo de desnutrición. Un profesional de la salud alerta interviene en tales casos a fin de reorganizar los horarios de las comidas u obtener suplementos alimenticios ^(10,13).

Los individuos institucionalizados son susceptibles a la desnutrición proteico-energética (DPE), también denominada desnutrición proteico-calórica (DPC), cuando son incapaces de alimentarse a sí mismos. En el mundo desarrollado, la DPE casi siempre se asocia con un proceso patológico. La masa corporal magra, principalmente el tejido muscular y visceral, es el elemento crítico que se pierde en la DPE ^(10,13).

Dos subtipos de DPE son el marasmo y el kwashiorkor. El marasmo se presenta cuando la víctima consume muy pocas kilocalorías y una cantidad insuficiente de proteínas. La persona parece estar consumiéndose. El marasmo se observa con frecuencia en los países en vías de desarrollo, pero también se presenta en enfermedades debilitantes como cáncer y SIDA ^(10,13).

El kwashiorkor clásicamente se presenta en los niños poco después del destete. El niño recibe más kilocalorías que en el caso del marasmo pero no las suficientes proteínas como para sustentar el crecimiento. Desde el punto de vista clínico, es posible que el niño parezca gordito, en especial alrededor del área abdominal, pero la causa de esta inflamación es la retención de líquidos, no la grasa.

El kwashiorkor es endémico en áreas donde la dieta básica tiene una baja proporción de proteínas a energía ^(10,13).

1.2.4.Regulación de procesos corporales

La proteína contribuye a la regulación de los procesos corporales. Las hormonas y las enzimas son ejemplos primordiales. Las nucleoproteínas, que también contienen proteína, son esenciales para el funcionamiento normal del cuerpo ⁽¹³⁾.

Hormonas

Las hormonas son químicos secretados por varios órganos a fin de regular los procesos corporales; son secretadas de manera directa al torrente sanguíneo más que a un conducto o a un órgano. La insulina y el glucagón son dos hormonas importantes que ayudan a controlar el metabolismo de la glucosa. La hormona del crecimiento regula la división celular y la síntesis de proteínas ⁽¹³⁾.

Enzimas

Las enzimas son esenciales para diversos procesos corporales, como la digestión. Las enzimas, que actúan como catalizadores, están involucradas en la degradación de los alimentos en el estómago y el intestino delgado. Sin la ayuda de las enzimas, muchos de los procesos corporales se llevarían a cabo de manera demasiado lenta como para ser efectivos ⁽¹³⁾.

Una enzima proporciona un sitio (sobre su superficie) para que dos sustancias se encuentren y reaccionen entre sí. Después se libera la nueva sustancia y la enzima cataliza una reacción nueva. Si no fuese por las enzimas, sería menos probable que ambas sustancias se encontraran, por lo que el funcionamiento básico del cuerpo sería imposible. La falta de una enzima efectiva puede tener efectos devastadores sobre la salud ⁽¹³⁾.

Nucleoproteínas

Las nucleoproteínas son complejos reguladores que incluyen a las proteínas. Estos complejos se localizan dentro del núcleo celular, donde dirigen las funciones de mantenimiento y reproducción de la célula. El ácido desoxirribonucleico (DNA) y el ácido ribonucleico (RNA) son nucleoproteínas que regulan la síntesis de proteínas dentro de la célula ⁽¹⁴⁾.

Un gen es parte del DNA que lleva el código que dirige la síntesis de una sola proteína. Los tipos de proteínas que la célula fabrica dependen de la naturaleza de la célula, por ejemplo, si se trata de una célula intestinal o de piel, o un óvulo o espermatozoide ⁽¹⁵⁾.

1.2.5. Inmunidad

El cuerpo produce proteínas denominadas anticuerpos en respuesta a la presencia de una sustancia extraña o de una sustancia que el cuerpo percibe como tal. Los anticuerpos proporcionan inmunidad a ciertas enfermedades y a otros padecimientos tóxicos. Un anticuerpo específico se crea para cada sustancia ajena ⁽¹⁵⁾.

Si una persona se ve expuesta a un cierto organismo que produce enfermedades, el cuerpo diseña un anticuerpo que neutraliza los efectos nocivos sólo de esa especie o cepa específica de organismo. En el caso de algunas enfermedades, una vez que el cuerpo ha producido numerosas copias de un anticuerpo dado, puede responder rápidamente a otro ataque, lo que hace que el individuo sea inmune a dicha enfermedad ⁽¹⁵⁾.

1.2.6. Circulación

La proteína principal en la sangre es la albúmina; ésta ayuda a mantener el volumen sanguíneo al reabsorber el líquido proveniente de los tejidos corporales al interior de las venas. Así, representa un papel importante en la conservación de la presión arterial. Además, algunas proteínas ayudan a mantener el equilibrio entre ácidos y bases en el cuerpo ⁽¹⁵⁾.

Algunas proteínas sirven de vehículo de transporte para nutrientes o medicamentos, como las proteínas que se adhieren a las grasas para convertirse en lipoproteínas para movilizar a los lípidos en el torrente sanguíneo. Los medicamentos se unen con la albúmina en el torrente sanguíneo. El término fijado a proteínas se refiere a la porción de la dosis del fármaco que está inactiva por encontrarse adherida a la albúmina ⁽¹⁵⁾.

1.2.7. Fuente de energía

La glucosa es la fuente de energía utilizada de manera más eficiente, pero las grasas y las proteínas pueden adaptarse como fuentes de reserva. La mayoría de los

demás sistemas corporales utiliza las grasas para obtener energía más fácilmente de lo que lo hace el sistema nervioso. Cuando el cuerpo tiene cantidades insuficientes de glucosa disponible para satisfacer las necesidades energéticas del sistema nervioso (como en una deficiencia de carbohidratos dietéticos de más de 12 h de duración), el cuerpo utiliza los tejidos proteicos corporales para satisfacer las necesidades de energía del cerebro y la médula espinal ⁽¹⁶⁾.

Así, una ingesta adecuada de carbohidratos se requiere para:

- Prescindir de las proteínas por su contribución única a la fabricación de tejido.
- Evitar las consecuencias indeseables de cetosis y pérdida muscular y obtener la energía a partir de fuentes menos eficientes: grasas y proteínas.

La cantidad de energía que se obtiene de 1 g de proteína es la misma que la cantidad que se obtiene a partir de 1 g de carbohidrato: 4 kcal. Una pérdida de cerca de 30% de las proteínas del cuerpo tiene probabilidades de ser fatal a causa de la reducción en la fortaleza muscular que se requiere para respirar, a deficiencias en la función inmune y a la disminución de la función de los órganos ⁽¹⁷⁾.

1.2.8. Clasificación de las proteínas alimenticias

Pocos alimentos se componen sólo de proteína; la clara del huevo se acerca, ya que 80% de sus kilocalorías se derivan de proteínas. La mayoría de los alimentos contienen combinaciones de proteínas, grasas y carbohidratos. No obstante, algunos alimentos son mejores fuentes de proteínas que otros ⁽¹⁷⁾.

Los alimentos proteicos se clasifican según el número y tipo de aminoácidos que contienen:

Las proteínas completas son los alimentos que suministran los nueve aminoácidos esenciales en cantidad suficiente para mantener al tejido y apoyar el crecimiento ⁽¹⁷⁾.

Las proteínas incompletas carecen de uno o más de los aminoácidos esenciales ⁽¹⁸⁾.

1.2.9. Proteínas completas

Con pocas excepciones, los alimentos individuales que contienen proteínas completas provienen de fuentes animales como carne, aves, huevos, leche y queso. Aunque la gelatina es un producto animal, es una proteína incompleta porque carece del aminoácido esencial triptófano. Los frijoles de soya son una fuente vegetal de proteína completa que se procesa en diversos productos ⁽¹⁹⁾.

Los productos derivados tanto de carne como de leche son buenas fuentes de proteína completa. Un adulto que requiere de 2000 kilocalorías al día, según My Pyramid, debería consumir 154 g (5½ oz) del grupo de carnes y 3 tazas de leche al día. My Pyramid categoriza al queso junto con la leche, mientras que el sistema de grupos de intercambio lo cataloga con las carnes ⁽²⁰⁾.

Cada intercambio de carne contiene 7 g de proteína sin tomar en cuenta la cantidad de grasas. No toda la carne de res es alta en grasas, al igual que no todos los pescados y las aves de corral son bajos en grasas. La figura muestra una porción de 84 g (3 oz) de lomo de res equivalente a tres intercambios de carne magra que proporcionan 21 g de proteína ⁽²¹⁾.

Cada intercambio de leche ofrece 8 g de proteína, pero las listas se subdividen en secciones de leche muy baja en grasas, baja en grasas y entera. Todos estos intercambios de leche ofrecen la misma nutrición en términos de proteína, pero no son nutrimentalmente equivalentes debido a la variación en su contenido de grasas ⁽²²⁾.

1.2.10. Proteínas incompletas

Los alimentos vegetales que contienen proteínas carecen de cantidades suficientes de uno o más aminoácidos esenciales. Así, la proteína de las plantas se denomina incompleta, pero el término incompleto no significa que estos alimentos sean indeseables. Se pueden combinar distintos alimentos vegetales para proporcionar todos los aminoácidos esenciales. Los granos, verduras, leguminosas, nueces y semillas contienen proteínas incompletas ⁽²²⁾.

Los intercambios de verduras y almidones/pan son fuentes de proteínas incompletas. Un intercambio de verduras con tiene 2 g de proteína. Un intercambio de almidones/pan contiene 3 g de proteína. Es importante señalar el tamaño del alimento;

algunos panes gourmet salados o dulces pueden ser mucho más grandes que el alimento de referencia en la lista de intercambios ⁽²²⁾.

1.2.11. Digestión y absorción de proteínas

Las peptidasas aseguran la digestión eficiente de las proteínas

La cantidad diaria total de proteínas que se ha digerir consta de 70-100 g de proteínas de la dieta y de 35-200 g de proteínas de los enzimas digestivos y de las células desechadas. La digestión y absorción de proteínas son procesos muy eficientes en los individuos sanos, ya que cada día solo se pierden por las heces alrededor de 1-2 g de nitrógenos, lo que equivale a 6-12 g de proteína ⁽²³⁾.

Con la excepción de un corto periodo después del nacimiento, los oligo- y polipéptidos no son absorbidos intactos en cantidades apreciables por el intestino. Las proteínas son hidrolizadas por peptidasas específicas para el enlace peptídico. Esta clase de enzimas se divide en endopeptidasas (proteasas), que atacan enlaces internos y liberan fragmentos peptídicos grandes, y exopeptidasas, que cortan un aminoácido cada vez desde el extremo COOH (carboxipeptidasas) o NH₂ (aminopéptidasas). Las endopeptidasas son importantes para una degradación inicial de polipeptidos largos en productos más pequeños, los cuales pueden ser atacados a continuación por exopeptidasas con mayor eficiencia. Los productos finales son aminoácidos libres y di y tripéptidos, que son absorbidos por las células epiteliales ⁽²⁴⁾.

El proceso de la digestión de proteínas se puede dividir en una fase gástrica, una fase pancreática y una fase intestinal según el origen de las peptidasas ⁽²⁵⁾.

Las peptidasas catalizan la digestión gástrica de proteínas

El jugo gástrico contiene HCl, un pH bajo, inferior a 2, y proteasas de la familia de la pepsina. El ácido sirve para matar los microorganismos y también para desnaturalizar proteínas. La desnaturalización hace que las proteínas sean más susceptibles a la hidrólisis por proteasas. Las pepsinas son enzimas poco usuales ya que son estables frente a ácidos; de hecho, son activas a pH ácido pero no a pH neutro. El mecanismo catalítico, que es efectivo para la hidrólisis de péptidos a pH ácido, depende de dos grupos carboxílicos situados en el centro activo de los enzimas. La

pepsina A, que es la proteasa gástrica principal, prefiere enlaces peptídicos formados por el grupo amino de aminoácidos aromáticos ⁽²⁴⁾.

La pepsina activa se genera a partir de la proenzima pepsinógeno por eliminación de 44 aminoácidos del extremo NH₂ (enzima porcino). La escisión del enlace peptídico entre los residuos 44 y 45 del pepsinogeno puede tener lugar, bien mediante reacción intramolecular (autoactivación) por debajo de pH 5, bien mediante pepsina activa (autocatalisis). El péptido liberado del extremo NH₂ permanece unido a la pepsina y actúa como “inhibidor de la pepsina” por encima de pH 2. Esta inhibición desaparece mediante una caída del pH por debajo de 2 o por degradación posterior del péptido por la pepsina. Así, el pepsinógeno se convierte en pepsina mediante autoactivación y posterior autocatalisis a una velocidad exponencial ^(30,33).

Los principales productos de la acción de la pepsina son grandes fragmentos peptídicos y unos cuantos aminoácidos libres. La importancia de la digestión gástrica de proteínas no reside en tanto en su contribución a la degradación de macromoléculas ingeridas como en la generación de péptidos y aminoácidos que actúan como estimulantes de la liberación de colecistoquinina en el duodeno. Los péptidos gástricos son, por tanto, instrumentos de la iniciación de la fase pancreática de la digestión de proteínas ⁽²⁶⁾.

Los zimógenos pancreáticos se activan en el intestino delgado

El jugo pancreático es rico en proteínas de endopeptidasas y de carboxipeptidasas, que se activan una vez que han alcanzado la luz del intestino delgado. La enteropeptidasa (denominada anteriormente enteroquinasa), una proteasa producida por células epiteliales del duodeno, activa el tripsinógeno pancreático a tripsina mediante escisión de un hexapéptido del extremo NH₂. A su vez, la tripsina activa de forma autocatalítica más tripsinógeno a tripsina, a la vez que actúa sobre los demás proenzimas, liberando así las endopeptidasas quimotripsina y elastasa y las carboxipeptidasas A y B. El jugo pancreático contiene normalmente un péptido de baja masa molecular que actúa como inhibidor de la tripsina y que neutraliza toda tripsina que se haya formado de manera prematura dentro de las células pancreáticas o de los conductos pancreáticos ⁽²⁶⁾.

Cada una tiene diferente especificidad de sustrato. Solo son activas a pH neutro, y dependen del NaHCO_3 pancreático para que neutralice el HCl gástrico. El mecanismo de catálisis de los tres enzimas implica un residuo de serina esencial, siendo similar al de las serina esterasas, como por ejemplo la acetilcolinesterasa. Los reactivos que interaccionan con la serina y la modifican inactivan las serina esterasas y peptidasas. Un ejemplo es el sumamente tóxico diisopropilfosforofluoridato, desarrollado inicialmente como arma química (es neurotóxico debido a su efecto inhibidor de la acetilcolina esterasa) ⁽²⁷⁾.

Los péptidos generados a partir de las proteínas ingeridas son degradados dentro de la luz del intestino delgado por las carboxipeptidasas A y B, que son metaloenzimas con Zn^{2+} y poseen un tipo diferente de mecanismo catalítico que las carboxi- o serina peptidasas. La acción combinada de las peptidasas pancreáticas tiene como resultado la formación de aminoácidos libres y péptidos pequeños de 2-8 residuos. A este nivel, los péptidos constituyen alrededor del 60% del nitrógeno amínico ⁽²⁷⁾.

Las peptidasas del borde en cepillo y citoplasmáticas digieren los péptidos pequeños

Dado que el jugo pancreático no contiene actividad aminopeptidasa apreciable, la digestión final de los di y oligopeptidos depende de enzimas del intestino delgado. La superficie luminal de las células epiteliales es especialmente rica en actividad endopeptidasa y aminopeptidasa pero también contiene dipeptidasas. Esta digestión en la superficie celular produce aminoácidos libres y di- y tripéptidos, que son absorbidos vía sistemas de transporte específicos para aminoácidos o péptidos. Generalmente, los di- y tripeptidos transportados se hidrolizan dentro del citoplasma antes de abandonar la célula. Las dipeptidasas citoplasmáticas explican el hecho de que prácticamente solo se encuentren en aminoácidos en la sangre portal después de una comida. Previamente se había considerado la práctica ausencia de péptidos como prueba de que la digestión luminal de proteínas discurría totalmente hasta aminoácidos libres antes de que pudiese tener lugar la absorción. Sin embargo, en la actualidad está bien establecido que una parte del nitrógeno amínico de la dieta se absorbe en forma de péptidos pequeños, con posterior hidrólisis intracelular. Los di- y tripéptidos que contienen prolina e hidroxiprolina o aminoácidos no habituales, tales como la β -

alanina en la carnosina (β -alanilhistidina) o la anserina (β -alanil 1-metilhistidina), se absorben sin que tenga lugar una hidrólisis intracelular debido a que no son buenos sustratos de las dipeptidasas citoplasmáticas intestinales. La β -alanina se encuentra en la carne de pollo ⁽²⁸⁾.

Los aminoácidos y los dipéptidos se absorben mediante transporte facilitado por transportador

El intestino delgado posee una elevada capacidad para absorber aminoácidos libres y péptidos pequeños. La mayor parte de L-aminoácidos se pueden transportar a través de epitelio contra un gradiente de concentración, si bien la necesidad de este transporte concentrador *in vivo* no es obvia, ya que las concentraciones lumbales son habitualmente superiores a los niveles plasmáticos de 0.1-0.2 mm. El transporte de aminoácidos y péptidos en el intestino delgado posee todas las características de un transporte facilitado por un transportador, tales como la discriminación entre aminoácidos D y L y la dependencia de energía y temperatura. Además, se sabe que en el ser humano se presentan defectos genéticos ⁽²⁹⁾.

Basándose en experimentos genéticos, de transporte y de clonación y expresión, pueden distinguirse en la membrana luminal al menos siete tipos diferentes de sistemas de transporte específicos de las células en cepillo para la captación de L-aminoácidos o péptidos pequeños (entre paréntesis el nombre del transportador y los sustratos típicos): (1) para aminoácidos neutros con cadenas laterales polares o cortas (ASCT-1 para Ala, Thr, Ser); (2) para aminoácidos neutros con cadenas laterales aromáticas o hidrofóbicas (Phe, Tyr, Met, Val, Leu, Ile); (3) para aminoácidos (Pro, Hyp); (4) para β -aminoácidos (Beta/Taut para β -Ala. Taurina); (5) para aminoácidos básicos y cistina (Lys, Arg, Cys-Cys); (6) para aminoácidos ácidos (EAAT-3 para Asp, Glu); y (7) para di- y tripéptidos (PepT1 para Gly-sarcosina) ⁽³⁰⁾.

Los mecanismos que concentran L-aminoácidos neutros parecen ser semejantes a los vistos para la D-glucosa. En la membrana luminal (células en cepillo) se han identificado sistemas de transporte dependientes de Na^+ , y en la membrana plasmática contraluminal de las células del epitelio del intestino delgado existen sistemas de transporte independientes de Na^+ . De modo parecido, al igual que sucede con el transporte activo de glucosa, la energía para el transporte concentrador de aminoácidos proviene directamente del gradiente electroquímico de Na^+ y solo

indirectamente de ATP. Los aminoácidos no se modifican químicamente durante su transporte a través de la membrana, aunque pueden ser metabolizados dentro del compartimento citoplasmático. El modo en que se impulsa el transporte de los demás aminoácidos en las células en cepillo es más complejo. Por ejemplo, el EAAT-3 facilita el cotransporte de aminoácidos con 2 iones Na^+ y el transporte en dirección contraria de un ion K^+ ⁽¹⁰⁾.

Los dipéptidos neutros son cotransportados con un H^+ y, por consiguiente, se ven impulsados a través de esta membrana por el gradiente electroquímico de protones. No obstante, debido al intercambio de Na^+/H^+ , el gradiente de H^+ es similar al gradiente de Na^+ establecido por la Na^+/K^+ -ATPasa. El Transportador dipéptidos también antibióticos β -lactámicos (aminopenicilinas), siendo importante en el proceso de absorción de antibióticos de este tipo administrados por vía oral ⁽³¹⁾.

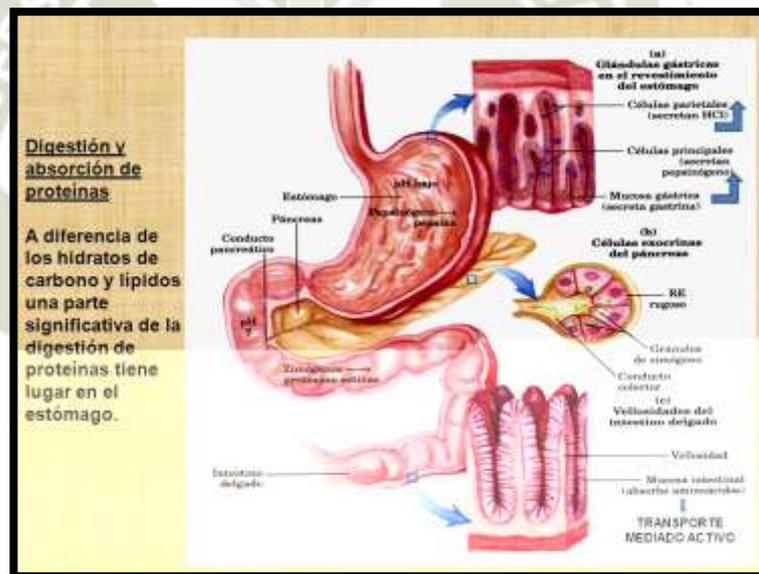


Figura 1.3 Digestión y absorción de proteínas

CAPÍTULO II

MATERIALES Y MÉTODOS**2.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN**

El presente trabajo de investigación corresponde a uno de tipo experimental debido a que se manipulara la variable *dieta* en animales de experimentación, mediante la administración de raciones alimenticias que contiene moringa, durante un periodo de alimentación frente a un grupos control con alimentación balanceada convencional y alimentación con caseína.

2.2. ÁREA DE INVESTIGACIÓN

El presente trabajo de investigación se circunscribe al campo de Ciencias de la Salud, al área de Farmacia, la Especialidad de Bromatología.

2.3. MATERIALES DE LABORATORIO

- Material de vidrio Probetas graduadas de 50,100, 500 mL
- Pipetas graduadas de 1 mL ,5 mL
- Balones de Kjeldahl
- Matraz Erlenmeyer de 250 mL

2.3.1. Equipos de laboratorio (marca y modelo)

- Frigorífico RELAY TIC-17R67
- Balanza de precisión OHAUS 6000g
- Balanza analítica KEM AEJ 200-4NM DE 200g de capacidad
- Equipo de Kjeldahl para digestión y destilación

2.3.2. Reactivos

- Agua destilada PURELAB CLASSIC
- Sulfato de cobre SPECTRUM PM. 249.69

- Sulfato de potasio J.T.BAKER PM. 174.26
- Ácido sulfúrico . EMSURE (95-97%)
- Hidróxido de sodio 50/50
- Zinc en granallas J.T.BAKER
- Sulfato de sodio J.T.BAKER PM. 142.04
- Ácido clorhídrico 0.1N
- Indicador Hiro Toshiro (azul de metileno + rojo de metilo + alcohol etílico al 96%)

2.3.3.Otros

- Frascos de plástico
- Mandil de laboratorio
- Gorro de laboratorio
- Guantes quirúrgicos
- Mascarilla
- Hoja de bisturí N° 11
- Equipo de disección
- Mortero y pistilo
- Tamiz de acero N° 8

2.4. MATERIAL BIOLÓGICO

2.4.1.Material vegetal

El material vegetal estaba conformado por las hojas de Moringa (*Moringa oleífera*).

2.4.2.Animales de experimentación

Los animales de experimentación que se utilizaron para el presente estudio fueron ratas albinas pertenecientes a la especie *Rattus novogicus*.

2.5. MÉTODOS APLICADOS

2.5.1. Determinación del contenido proteico de las hojas secas de *Moringa oleífera* (*Moringa*).

2.5.1.1 Preparación de las hojas secas de *Moringa*

Las hojas de *Moringa* (*Moringa oleífera*) fueron previamente preparadas para su administración a los animales de experimentación. La recolección se realizó en el Fundo Quenta – Alto Palo Hospicio Ubicado en la frontera con Chile, departamento de TACNA. Posteriormente se seleccionaron las hojas en buen estado, aparentemente sanas y sin signos de alteración por factores internos y externos, además de retirar el material extraño. Las hojas de *Moringa* (*Moringa oleífera*) fueron trituradas utilizando mortero y pistilo de porcelana.

Para homogenizar el tamaño de partícula se tamizó las hojas trituradas de moringa (*Moringa oleífera*) utilizando un tamiz de acero N° 8, el tamizado se separó y el residuo se volvió a triturar y volver a tamizar.

2.5.1.2 Determinación de Proteínas mediante el método de kjeldahl

2.5.1.2.1 Fundamento de método de Kjeldahl

El contenido total de proteínas en los alimentos está conformado por una mezcla compleja de proteínas. Estas existen en una combinación con carbohidratos o lípidos, que puede ser física o química. Actualmente todos los métodos para determinar el contenido proteico total de los alimentos son de naturaleza empírica. Un método absoluto es el aislamiento y pesado directo de la proteína, pero dicho método se utiliza sólo a veces en investigaciones bioquímicas debido a que es dificultoso y poco práctico.

En 1883 el investigador danés Johann Kjeldahl desarrolló el método más usado en la actualidad para el análisis de proteínas (método Kjeldahl) mediante la determinación del nitrógeno orgánico. En esta técnica se digieren las proteínas y otros componentes orgánicos de los alimentos en una mezcla con ácido sulfúrico en presencia de catalizadores. El nitrógeno orgánico total se convierte mediante esta digestión en sulfato de amonio. La mezcla digerida se neutraliza con una base y se

destila posteriormente. El destilado se recoge en una solución de ácido bórico. Los aniones del borato así formado se titulan con HCl (o H_2SO_4) estandarizado para determinar el nitrógeno contenido en la muestra ⁽³²⁾.

El resultado del análisis es una buena aproximación del contenido de proteína cruda del alimento ya que el nitrógeno también proviene de componentes no proteicos.

2.5.1.2.2 Procedimiento de determinación de proteínas por el método de Kjeldahl

Para la determinación del contenido de proteínas por el método de Kjeldahl se colocó en un balón 1 g de muestra + 2 g sulfato de cobre + 10 g sulfato de potasio y finalmente agregar por las paredes H_2SO_4 concentrado cuidadosamente. Se llevó al Kjeldahl para digerir por 45 minutos aproximadamente, fue necesario estar moviendo continuamente para evitar que se pegue en las paredes del balón, se observa que a medida que se va digiriendo la muestra pasa de un color negro a un color verde claro lo cual indicara el fin de la digestión ⁽³³⁾.

Luego de la digestión se procedió a la destilación colocando en un matraz dicromato de potasio al 2% + 7 gotas de indicador Hiro Toshiro, las cuales se colocarán en las mangueras de destilación.

Luego se tomó el balón con la muestra digerida y se le agregó 45 mL de agua destilada + 50 mL de hidróxido de sodio al 50% y granallas de zinc. Este procedimiento se realizó cuidadosamente porque el excesivo calentamiento. Finalmente se conectó al destilador herméticamente, en donde la destilación se llevó a cabo en aproximadamente 45 minutos.

Transcurrido el tiempo se retiró las mangueras y los matraces hasta recolectar 30 mL y se observó que cambio de una coloración morada a una coloración verde. Para culminar se procedió a titular con ácido clorhídrico 0.1N y se anotó los gastos de cada uno de ellos.



Figura 2.1 Procedimiento para determinar proteínas por el método kjeldahl

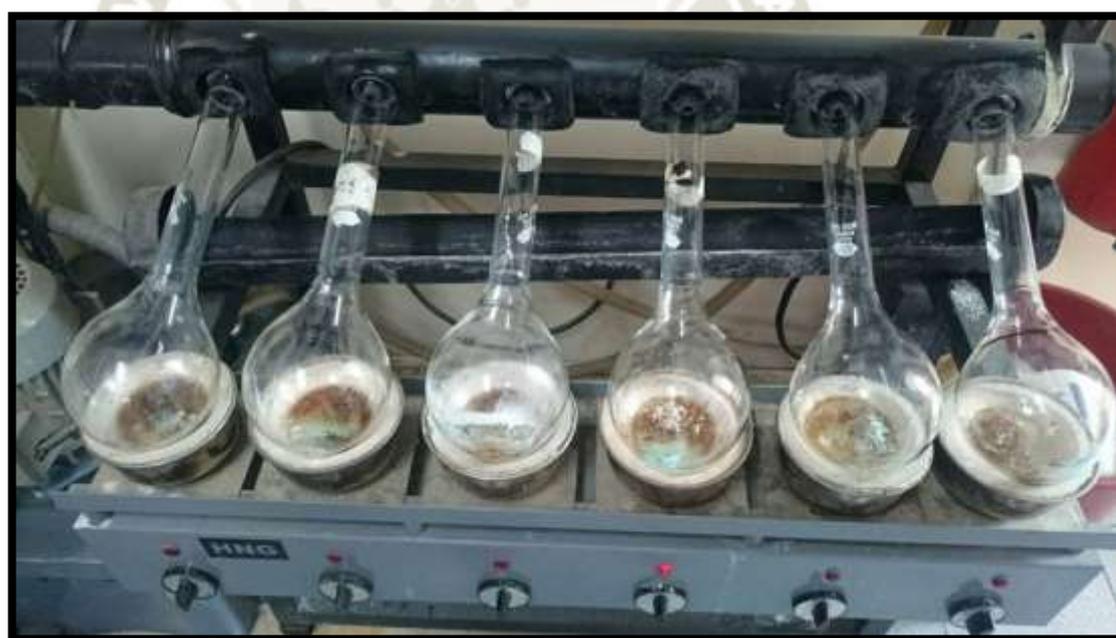


Figura 2.2 Digestión del Polvo de las hojas de Moringa por el Método Kjeldahl



Figura 2.3 Destilación del polvo de las hojas de Moringa de Método Kjeldahl

2.5.2. Formulación de las raciones alimenticias de *Moringa oleífera* (Moringa) cumpliendo el requerimiento diario proteico para ratas de laboratorio.

2.5.2.1 Fundamento de método del cuadrado de Pearson para la determinación de las raciones

El método del cuadrado de Pearson, llamado también la cruz de mezclas o cruz de San Andrés. Es el método más usado por ser más sencillo y consiste básicamente en formar un cuadrado con los datos conocidos al costado izquierdo y la concentración o requerimiento deseado al centro del cuadrado y los valores al costado izquierdo que forman los valores del costado derecho o proporción en que deben ser mezclados los ingredientes conocidos.

2.5.2.2 Procedimiento para la determinación de las raciones mediante el método del cuadrado de Pearson

Tal como lo exige el método de Cuadrado de Pearson las raciones proteicas para los animales de experimentación estuvieron constituidas por un alimento con bajo contenido y otro con alto contenido proteico. Para el cálculo se debió considerar la cantidad de ración total a medir, posteriormente se colocó en el lado izquierdo del cuadrado al alimento en cuestión y su valor proteico y en el medio el requerimiento proteico del animal.

Se procedió a los cálculos para determinar la cantidad total en gramos de cada alimento en la ración total. A continuación, se describen las raciones:

- *RAB, Ración de alimento balanceado*: Utilizada como control esta ración estuvo conformada por alimento comercial balanceado para roedores y que contenía según su composición nutricional 21% de proteína.
- *RCPM, Ración de contenido proteico Moringa*: Esta ración contenía a la moringa como alimento de contenido proteico alto de naturaleza vegetal, junto al maíz, de contenido proteico bajo, ambos constituyeron una ración con 21% de proteína.
- *RCPC, Ración de contenido proteico Caseína*: Esta ración contenía a la caseína como alimento de contenido proteico alto de naturaleza animal, junto al maíz, de contenido proteico bajo. ambos constituyeron una ración con 21% de proteína.
- *RCPMC, Ración de contenido proteico Moringa y Caseína*: Esta ración contenía tanto a la moringa y a la caseína como alimentos de contenido proteico fue una ración compleja, junto al maíz, de contenido proteico bajo. ambos constituyeron una ración con 21% de proteína.

2.5.3. Evaluación de la digestibilidad *in vivo* de proteínas presentes en el polvo de las hojas de *Moringa oleífera* (Moringa) incorporadas en la dieta de animales de experimentación *Rattus norvegicus* en comparación con raciones de caseína y alimento balanceado

La evaluación de la digestibilidad en animales de experimentación en primer lugar implicó la homogenización de condiciones de los animales para la evaluación, ello se realizó conforme las siguientes pautas.

2.5.3.1 Uniformidad de condiciones de experimentación

Todos los animales fueron sometidos a las mismas siguientes condiciones:

- Dieta
- Agua
- Luz-sombra
- Un animal por jaula

Antes de administrar las dietas experimentales se registró el peso de los animales de experimentación mediante balanza de precisión.

2.5.3.2 Conformación de grupos experimentales

Los grupos experimentales se conformaron en forma aleatoria, eligiéndose al azar cada animal para quedar repartidos en los siguientes grupos:

- *Grupo Ración alimento balanceado (GRAB)*: Conformado por 5 animales de experimentación *Rattus norvegicus* alimentado con una dieta consistente en alimento balanceado para roedores con 21% de contenido de proteínas.
- *Grupo Ración de contenido proteico Moringa (GRCPM)*: Conformado por 5 animales de experimentación *Rattus norvegicus* alimentado conformada con polvo de hojas de moringa como fuente principal de proteínas.
- *Grupo Ración de contenido proteico Caseína (GRCPM)*: Conformado por 5 animales de experimentación *Rattus norvegicus* alimentado conformada con caseína como fuente principal de proteínas.
- *Grupo Ración de contenido proteico Moringa y Caseína (GRCPMC)*: Conformado por 5 animales de experimentación *Rattus norvegicus* alimentado conformada con moringa y caseína como fuentes principales de proteínas.
- *Grupo Tratamiento Aprroteico*: Conformado por 5 animales de experimentación *Rattus norvegicus* alimentado con una dieta carente de proteínas.

Todos los animales recibieron su tipo de ración de acuerdo al grupo y fueron alimentados durante 21 días. Se dejó 10 g de ración por cada animal a una hora determinada y se recogió las heces dos veces al día y se almaceno en un recipiente de peso conocido, de tal modo que al día siguiente se pesaba y por diferencia se hallaba la cantidad de heces diarias. Algo similar ocurrió con las raciones ya que al reponer la otra ración se recogía el alimento sobrante si hubiese en un recipiente de peso conocido y por diferencia se halló la cantidad de alimento sobrante diario.

Al final se tabularon toda esta información de alimento sobrante diario y cantidad de heces diarias (ver anexos) para el cálculo de los siguientes índices biológicos para la determinación de la digestibilidad proteica.

2.5.3.3 Índices biológicos para determinar la digestibilidad proteica

2.5.3.3.1 Coeficiente de eficacia de crecimiento (CEC)

El coeficiente de eficacia de crecimiento (CEC) o también conocido como la relación de eficiencia proteica (PER), es el aumento de peso corporal dividido por el peso de proteínas consumidas ⁽³⁴⁾.

$$CEC = \frac{\text{Aumento de peso (g)}}{\text{Consumo de alimento (g)} \times \% \text{ de proteína}}$$

(Ecuación 1)

2.5.3.3.2 Coeficiente de Digestibilidad aparente (CDA)

Es la proporción de nitrógeno proteico del alimento absorbido respecto al ingerido. Los valores de CDA son más altos para proteínas de origen animal (97% para el huevo y proporcionalmente inferiores para la carne, el pescado y la leche), y más bajos para los de origen vegetal (alrededor del 85% para el trigo y las leguminosas y 90% para el maíz) ⁽³⁴⁾.

Para su cálculo se resta la cantidad de nitrógeno presente en las heces al presente en el alimento ⁽³⁴⁾.

$$CDA = \frac{N \text{ ingerido} - N \text{ en heces (g)}}{N \text{ ingerido}} \times 100$$

(Ecuación 2)

2.5.3.3.3 Coeficiente de Digestibilidad verdadera (CDV)

Muy semejante al anterior, pero tiene en cuenta que parte del nitrógeno eliminado por las heces es de origen endógeno y no procede exclusivamente del no absorbido desde la dieta ⁽³⁴⁾.

$$CDV = \frac{AC \times NC - ((CH \times NE) - PE)}{AC \times NC} \times 100$$

(Ecuación 3)

AC: Cantidad de alimento consumido

CH: Cantidad de heces

NC: Concentración del nutriente consumido

NE: Concentración del nutriente excretado

PE: Perdida endógena del nutriente

2.5.3.3.4 Utilización neta de proteínas

El método de Miller y Bender (1995), goza de bastante prestigio y se le emplea profusamente; reúne características de rapidez, exactitud, reproductibilidad y versatilidad que lo hacen especialmente apta para el trabajo rutinario. Este método consiste en medir el porcentaje del nitrógeno ingerido que el organismo retiene ^(35,63).

Éste método determina el nitrógeno en carcasa desecada del animal.

$$NPU = \frac{N \text{ muestra} - N \text{ conocido}}{\text{Ingesta N}}$$

(Ecuación 4)

Donde:

N muestra= Contenido de N en la carcasa del grupo experimental.

N conocido= Contenido de N en la carcasa del grupo con dieta libre de N.

Para la realización de este método y la determinación de su índice al final de la experimentación se escogió al azar de cada grupo para elegir a tres animales de experimentación. Es decir, se tuvo en total 15 animales de los cinco grupos respectivos, además de ello se implementó al final un grupo de experimentación adicional conformado por 3 animales de experimentación a los que se les administro una dieta libre de proteínas, conformada solo por aceite, azúcar y multivitamínicos.



Figura 2.4 Sacrificio y retiro de pelaje



Figura 2.5 Carcasa de *Rattus Novegicus*



Figura 2.6 Carcasa molida de *Rattus Novegicus*

Transcurrido el periodo de alimentación se retiró todo tipo de alimento y agua, por seis horas antes de sacrificar a los animales.

Previo a la dislocación cervical, se sacrificó y posteriormente se retiró el pelaje mediante una rasuradora eléctrica luego, se retiró la cabeza del animal se evisceró realizando un corte en la pared abdominal y se retiró todo su contenido. Posteriormente se limpió con algodones.

Cada uno de los animales fue colocado la estufa para ser deshidratados a 110°C, durante 24 horas. Una vez secos se lograron las carcasas las que fueron molidas hasta obtener un polvo. Este se acondiciono para su almacenamiento y posterior evaluación de contenido de nitrógeno por el método Kjeldahl.

2.5.3.3.5 Valor biológico

$$VB = \frac{NPU}{CDV}$$

(Ecuación 5)

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN**3.1. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO NUTRICIONAL (PROTEÍNAS)
DE LAS HOJAS SECAS DE *Moringa Oleífera* (MORINGA).**

La hoja de moringa, tuvo que ser recolectada, desde su hábitat posteriormente se seleccionaron solo las hojas secas, luego se trituraron y el triturado fue tamizado para tener una homogeneidad de partícula.

El triturado final obtenido tuvo dos destinos en primer lugar la evaluación del contenido proteico y la elaboración de raciones cuyos resultados se exponen más adelante.

Para la evaluación del contenido de proteínas se siguió la metodología descrita en el capítulo anterior, por cada muestra se hicieron tres análisis, los resultados se presentan a continuación.

Tabla 3.1 Contenido proteico (%) para el polvo de hojas de *Moringa Oleífera* (Moringa)

Análisis 1	25.85 %
Análisis 2	24.96 %
Análisis 3	26.65 %
Recuento	3
Promedio	25.82%
Desviación Estándar	0.8454
Coefficiente de Variación	3.27%
Sesgo Estandarizado	-0.1127

Los resultados de la Tabla 3.1 son importantes para los objetivos de la investigación, en ella se muestra el contenido proteico para las hojas de Moringa que tuvo un promedio fue de 25.82% de nitrógeno proteico, el coeficiente de variación mostrado fue de 3.27% lo cual indica una buena repetitividad en el método de cuantificación empleado.

Los resultados obtenidos concuerdan con lo señalado por García et al. (2006) el cual realizó la evaluación de la composición química de seis especies de Moringa de seis años de edad, entre ellas moringa oleífera la cual reportó un porcentaje de proteína de 21.59 % y 26.74 % en hojas y tallos jóvenes y desarrollados respectivamente ⁽³⁶⁾.

Garavito en el 2008, también analizó el contenido proteico en *Moringa oleifera* de 54 días recién deshidratada y molida identificando un contenido de 24.99% en hojas, 11.22% en tallos y 21.00% en hojas y tallos , concluyendo que la distribución es mayor en hojas; así mismo señala que debido a su alto contenido de proteínas y vitaminas puede ser empleado como suplemento de importancia en la ganadería para la producción de leche , así como también en el empleo de alimentación para peces, aves y cerdos manteniendo el balance nutricional ⁽³⁷⁾.

Así mismo Dillard y German en el año 2000 señalaron que las hojas de moringa son una fuente rica proteína, β -caroteno, vitamina C, calcio y potasio y actúan como una buena fuente de antioxidantes naturales mejorando la vida útil de alimentos ⁽³⁸⁾.

Martin Et al en el 2010 comparó seis plantas oleaginosas de Cuba encontrando que *Moringa oleifera* (Moringa) presenta mayor contenido de proteína por peso seco (68.6%) ⁽³⁹⁾.

Finalmente, Liñan (2010) analizó el aporte nutricional de la Moringa encontrando un 27.21% , 9.36% y 37.07% en hojas frescas, vainas y semillas respectivamente demostrando un mayor contenido en semillas sin embargo en la presente investigación se seleccionaron las hojas puesto que representan la mayor parte de la totalidad del árbol, además de presenta otros beneficios como lo son la vitamina C (109.3 mg/100g de peso fresco) y hierro (24.26 mg/100 g de peso fresco) tal como

lo menciona el estudio de Liñan. Valores que presenta menor proporción en semillas⁽⁴⁰⁾.

Moyo et al. (2011) reportaron el valor nutricional de las hojas de moringa del ecotipo sudafricano. Las hojas secas tenían niveles de proteína bruta de 30.3% y 19 aminoácidos. Las hojas secas tenían los siguientes contenidos minerales: calcio (3.65%), fósforo (0.3%), magnesio (0.5%), potasio (1.5%), sodio (0.164%), azufre (0.63%), zinc (13.03 mg / kg), cobre (8,25%), manganeso (86,8 mg / kg), hierro (490 mg / kg) y selenio (363 mg / kg). Se observaron 17 ácidos grasos con ácido α -linolénico (44.57%) que tiene el valor más alto seguido de heneicosanoico (14.41%), g-linolénico (0.20%) palmiteic (0.17%) y ácido cáprico (0.07%). La vitamina E tenía la concentración más alta de 77 mg / 100 g que el betacaroteno, que tenía 18.5 mg / 100 g en las hojas secas. El contenido de fibra fue fibra detergente neutra (NDF) (11,4%), fibra detergente ácida (ADF) (8,49%), lignina detergente ácida (ADL) (1,8%) y (celulosa detergente ácida (ADC) (4,01%). los taninos condensados tenían un valor del 3,2%, mientras que los polifenoles totales eran del 2,02%. Los valores de aminoácidos, ácidos grasos, minerales y perfiles de vitaminas reflejan un equilibrio nutricional deseable⁽⁴¹⁾.

3.2. ELABORACIÓN DE LAS RACIONES CON MORINGA

Con el polvo de moringa se procedió a la elaboración de las raciones alimenticias, tal como se describe en la parte metodológica de este estudio se aplicó para tal efecto el método del cuadrado de Pearson, se consideró la ingesta diaria de proteína para ratas que fue de 21%, valor que incluso se cumple en alimento balanceado fabricado para roedores, con este valor se preparó cada una de las raciones.

Cada tipo de ración tuvo que ser además formulada manteniendo los otros componentes en cantidades fijas, de tal modo de controlar cualquier intervención que pueda afectar los resultados del estudio. Para ello se consideró una parte de la formula como porciones fijas y otra como porciones variables, las porciones fijas estaban constituidas por azúcar (carbohidratos) aceite (lípidos) y multivitámicos (nutrientes). Las porciones variables precisamente están conformadas por las proporciones experimentales de moringa junto con otros componentes alimenticios, y constituyen la mayor proporción de la ración. La fórmula alimenticia centesimal general fue la siguiente.

Si bien es cierto la fórmula es centesimal para la elaboración de raciones se elaboró calculando para una mezcla total de 1000 g, ello por fines prácticos. Además, se consideró los valores nutricionales de contenido proteico de los siguientes alimentos, por cada 100 g, el maíz contiene 8% de proteínas, la caseína 96% y el afrecho 15.5%.

Tabla 3.2 Fórmula alimenticia general para la determinación de raciones

Tipo porción	Descripción	Cantidad (g)
Variable	Moringa, Caseína y Maíz	80
Fija	Azúcar	3
	Aceite	10
	Multivitamínicos	7
Total		100 g

Para la elaboración de raciones mediante el método de Pearson se debe considerar un alimento con contenido alto y otro bajo, respecto del requerimiento, con estas premisas se elaboraron las raciones.

Matamoros (2012) menciona que se debe considerar las necesidades nutritivas de los animales destinatarios y la composición química de los alimentos para formular raciones balanceadas, en su investigación emplea también el método de cuadrado de Pearson para determinar la proporción de la mezcla de dos o más alimentos que aporten la cantidad de nutrientes necesarios ⁽⁴²⁾.

El Manual del Protagonista Nutrición animal (2016) menciona tres métodos para el cálculo de raciones, siendo éstos el método de tanteo, el método de cuadrado de Pearson y el método de doble cuadrado de Pearson, siendo el método de cuadrado de Pearson uno de los más sencillos y recomendado ⁽⁴³⁾.

3.2.1. Ración contenido proteica moringa (RCPM)

Para la elaboración de esta ración se consideró y mezcló al maíz como alimento con contenido proteico bajo (8%) y a la moringa como alimento con contenido proteico alto (25.81%), en base a ello se procedió al cálculo para una ración de 1 kg. tal y como se muestra en las Tablas 3.3 y 3.4

Tabla 3.3 Método de Pearson para la ración contenido proteico de moringa

Alimento	% Proteínas	Requerimiento	% participación	Aporte proteico	Total en la mezcla
Maíz	8	21	27.01	2.16	216.06
Moringa	25.81		72.9	18.84	583.94
		Total	100	21	800

Soto en el 2004 reportó un porcentaje de proteína entre 4.4% a 7.1% en maíz cuando se incrementa la fertilización nitrogenada, y el Manual del Protagonista Nutrición Animal del 2016 reporta un contenido de proteína bruta para el maíz de 7.9%, harina de yuca en 2.2% entre otros ^(44,43).

Tal como se aprecia según el método de Pearson las hojas moringa constituyen el 72.9% de la mezcla de alimento con contenido proteico, siendo su aporte proteico mayor, cumple el objetivo de contar con una ración en donde las hojas de moringa sean la fuente principal de nitrógeno proteico. Con estas cantidades y realizando los redondeos la fórmula de la ración centesimal queda como sigue:

Tabla 3.4 Fórmula alimenticia final para la ración contenido proteico Moringa

Descripción	Cantidad (g)
Polvo de hojas de moringa	583
Polvo de semillas de maíz	216
Azúcar	30
Aceite	100
Multivitamínicos	70
Total	1000 g

3.2.2. Ración contenido proteico caseína (RCPC)

Para la elaboración de esta ración se consideró y mezcló junto al maíz este último como alimento con contenido proteico bajo (8%) y la caseína como alimento con contenido proteico alto (96%), en base a ello se procedió al cálculo para una ración de 1 kg (Tabla 3.5 y 3.6)

Tabla 3.5 Método de Pearson para la ración contenido proteico de caseína

Alimento	% Proteínas	Requerimiento	% participación	Aporte proteico	Total en la mezcla
Maíz	8	21	85.23	6.82	681.8
Caseína	96		14.77	14.18	118.2
Total			100	21	800

Según el Codex Alimentarius del 1995 recomienda en el 2014, menciona para los productos a base de caseína un valor mínimo de proteínas de 95% para caseína por lo cual el alimento empleado en la presente investigación corresponde con lo mencionado en el Codex ⁽⁴⁵⁾.

Tal como se aprecia según el método de Pearson la caseína constituyen el 14.77% de la mezcla de alimento con contenido proteico, pese a que este porcentaje es menor brinda el mayor aporte proteico con 14.18 del 21% requerido, del mismo modo cumple con una ración con contenido proteico que no sea moringa como fuente principal de nitrógeno proteico. Con estas cantidades y realizando los redondeos la fórmula de la ración centesimal queda como sigue:

Tabla 3.6 Fórmula alimenticia final para la ración contenido proteico Moringa

Descripción	Cantidad (g)
Caseína	118
Polvo de semillas de maíz	682
Azúcar	30
Aceite	100
Multivitamínicos	70
Total	1000 g

3.2.3. Ración contenido proteico moringa y caseína (RCPMC)

Esta ración es compleja debido a que está conformado por dos fuentes proteicas altas la moringa con 25.81% y la caseína con 96%, para balancear esta ración también se utilizó el maíz como fuente proteica baja con 8%., en base a ello se procedió al cálculo para una ración de 1 kg, tal y como se señala en las Tablas 3.7 y 3.8.

Tabla 3.7 Método de Pearson para la ración contenido proteico de Moringa y Caseína

Alimento	% Proteínas	Requerimiento	% participación	Aporte proteico	Total en la mezcla
Maíz	8	21	4.55	0.36	36.4
Caseína	96		12.29	11.8	98.3
Maíz	8		70.88	5.67	567
Moringa	25.81		12.28	3.17	98.3
Total			100	21	800

Según el balance Pearson en gramaje tanto la caseína como moringa tiene la misma cantidad 98.3%, sin embargo, por su naturaleza la caseína tiene el mayor aporte proteico, por otro lado, entre la caseína y la moringa son los que tiene el mayor porcentaje proteico respecto al maíz, por lo que como ración cumple su objetivo. Con estas cantidades y realizando los redondeos la fórmula de la ración centesimal queda como sigue:

Tabla 3.8 Fórmula alimenticia final para la ración contenido proteico Moringa y Caseína

Descripción	Cantidad (g)
Caseína	98
Polvo de hojas de moringa	98
Polvo de semillas de maíz	604
Azúcar	30
Aceite	100
Multivitamínicos	70
Total	1000 g

3.3. EVALUACIÓN DE LA DIGESTIBILIDAD PROTEICA.

La evaluación de la digestibilidad requirió por su naturaleza cumplir condiciones de experimentación antes y durante la administración de raciones:

Antes de la administración de raciones se optó por animales de experimentación de 21 días de vida, todos nacieron bajo condiciones de cautiverio, sanos y de pesos cercanos entre unos y otros.

Durante la administración todos dispusieron de agua, la misma hora de recojo de raciones sobrantes y reposiciones de raciones, así las heces por su parte se recolectaban dos veces al día para evitar pérdidas.

Posteriormente se identificaron los animales de experimentación y se asignó a cada uno a un grupo mediante sorteo, luego se procedió al registro de sus pesos corporales iniciales, antes de administrar cualquier ración, mostrados en la Tabla 3.9. Luego de ello se inició la administración de las raciones cada día se les dejaba 10 g de la ración por cada animal, se les administró durante 3 semanas o 21 días. Tabulados los datos relacionados al total de alimento consumido y residuos recolectados se procedió al cálculo de los índices biológicos de digestibilidad proteica.

Boye et. al (2012) menciona los métodos utilizados con frecuencia para la evaluación de la calidad de las proteínas en la dieta, incluyen la puntuación de aminoácidos (AA), el balance de nitrógeno (NB), la digestibilidad de la proteína in vivo (aparente, corregida o verdadera), la digestibilidad de la proteína in vitro, la relación de eficiencia proteica (PER), la PER estimada, la PER máxima, la relación proteica neta (o retención) (NPR), clasificación de proteínas (PR), utilización neta de proteínas (NPU), valor biológico (BV) (aparente, verdadero, relativo) y el PDCAAS puntuación de aminoácidos de digestión de proteínas corregida ⁽⁴⁶⁾.

3.3.1. Coeficiente de eficacia de crecimiento (CEC)

El coeficiente de eficacia de crecimiento (CEC) o también conocido como la relación de eficiencia proteica (PER), es el aumento de peso corporal dividido por el peso de proteínas consumidas. (Nutrición básica Humana. Soriano) ⁽²³⁾.

$$CEC = \frac{\text{Aumento de peso (g)}}{\text{Consumo de alimento (g)} \times \% \text{ de proteína}}$$

(Ecuación 1)

Para calcular este índice se calculó el aumento de peso luego de 21 días de administrar las raciones, así como la cantidad de alimento consumido que fue hallando la diferencia de lo administrado menos el residuo. El porcentaje de proteínas de todas las raciones fue de 21%, si bien es cierto la diferencia radica en la fuente de este contenido proteico según los grupos experimentales.

Como se observa en la Tabla 3.9 correspondiente a los resultados de la CEC, se totalizó la cantidad total de alimento consumido, esta es de 210 g ya que por día se dejó 10 g a cada animal, el residuo total corresponde a los gramos de alimento remanente diario. El peso inicial se refiere al peso corporal al inicio de la experimentación, y el peso final luego de 21 días de administradas las raciones alimenticias.

Tabla 3.9 Coeficiente de Eficacia de Crecimiento (CEC) de las raciones experimentales

Grupos*	Alimento total (g)	Residuo total (g)	Peso Inicial (g)	Peso final (g)	CEC
GRCPM	210	65.8	57.8	82.2	0.806
GRCPM	210	75.9	52	78.3	0.934
GRCPM	210	70.6	53.2	79.6	0.902
GRCPM	210	73.8	60.4	83.8	0.818
GRCPM	210	78.7	57.4	81.5	0.874
GRCPC	210	19.4	48.4	88.4	0.999
GRCPC	210	26.5	47	84.6	0.976
GRCPC	210	25.7	61.2	104.8	1.127
GRCPC	210	25.5	40	84.3	1.143
GRCPC	210	24.5	42.5	80.9	0.986
GRCPMC	210	22.2	57	95.2	0.969
GRCPMC	210	21.2	58	96.7	0.976
GRCPMC	210	21.2	59.5	98.3	0.979
GRCPMC	210	23.5	58.7	100.1	1.057
GRCPMC	210	27.2	61.2	103.3	1.097
GRAB	210	37.2	64.4	94.2	0.821
GRAB	210	34.8	60.1	96.8	0.997
GRAB	210	33	59.6	89.3	0.799
GRAB	210	33.4	58.3	89.2	0.833
GRAB	210	34.6	55.6	85.4	0.809

***GRCPM: GRUPO RACIÓN CONTENIDO PROTEICO MORINGA; GRCPC: GRUPO RACIÓN CONTENIDO PROTEICO CASEÍNA; GRCPMC: GRUPO RACIÓN CONTENIDO PROTEICO MORINGA-CASEÍNA; GRAB: GRUPO RACIÓN CONTENIDO PROTEICO ALIMENTO BALANCEADO**

Es importante señalar que la cantidad de proteína en todos los grupos fue de 21%, ya que se cumplió este requisito para todas las raciones, de lo contrario si un grupo dispone de más proteínas, los resultados tendrían un sesgo.

Los resultados del análisis descriptivo de la CEC se aprecian en la Tabla 3.10, en la cual se muestra en promedio de los diferentes grupos experimentales siendo 0.87+/-0.07 para la dieta en base a moringa, 1.05+/-0.1 el CEC para la dieta de caseína, 1.02+/-0.07 para la dieta de moringa y caseína y de 0.85+/-0.1 para la dieta de alimento balanceado.

Tabla 3.10 Estadística descriptiva del Coeficiente de Eficacia de Crecimiento (CEC) de las raciones experimentales

	GRCPM	GRCPC	GRCPMC	GRAB
Recuento	5	5	5	5
Promedio	0.87+/-0.07	1.05+/-0.1	1.02+/-0.07	0.85+/-0.1
Desviación Estándar	0.0545	0.0817	0.0579	0.0824
Coefficiente de Variación	6.29%	7.81%	5.71%	9.67%
Mínimo	0.8058	0.9757	0.9686	0.799
Máximo	93.39%	1.1434	1.0967	0.9975
Sesgo Estandarizado	0.0135	0.5342	0.7736	1.0918

***GRCPM: GRUPO RACIÓN CONTENIDO PROTEICO MORINGA; GRCPC: GRUPO RACIÓN CONTENIDO PROTEICO CASEÍNA; GRCPMC: GRUPO RACIÓN CONTENIDO PROTEICO MORINGA-CASEÍNA; GRCPAB: GRUPO RACIÓN CONTENIDO PROTEICO ALIMENTO BALANCEADO**

Según Sherman el valor fundamental de una proteína dietética es suministrar nitrógeno alfa-amino para propósitos anabólicos, asegurando así un crecimiento óptimo o, en un adulto, permitiendo la renovación normal de proteínas corporales con un balance de nitrógeno equilibrado ⁽⁴⁷⁾.

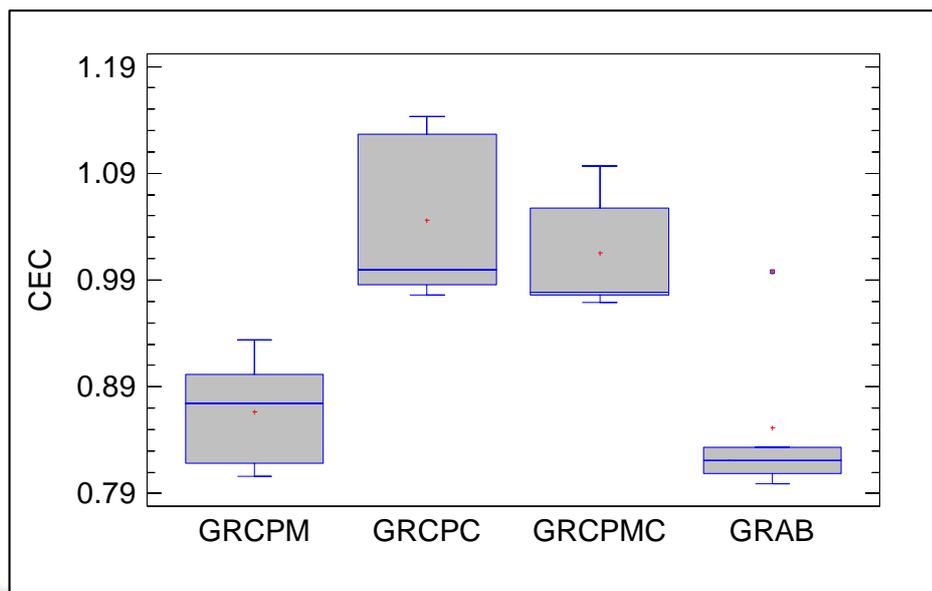


Figura 3.1. Coeficiente de Eficacia de Crecimiento (CEC) de las raciones experimentales

En la Figura 3.1 Se muestra los promedios mencionados de manera gráfica mediante una representación de caja y bigotes en la cual se observan dos grupos con mayor valor de CEC correspondientes a caseína y caseína moringa, siendo necesario para confirmar su igualdad estadística realizar los análisis de varianza y pruebas post hoc respectivas.

El análisis de varianza mostrado en la Tabla 3.11 ejecutado en el programa Statgraphics centurión XIV fue necesario para ver las diferencias o semejanzas estadísticamente significativas entre grupos, el valor-p encontrado de 0.0006 rechaza la hipótesis de igualdad de medias entre los grupos experimentales, de lo que se concluye que existen diferencias estadísticamente significativas a un 95% de confianza entre los coeficiente de eficacia de crecimiento (CEC) entre los cuatro grupos experimentales que recibieron las distintas raciones alimenticias.

Tabla 3.11 Análisis de varianza del Coeficiente de Eficacia de Crecimiento (CEC) de las raciones experimentales

	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-p
Entre grupos	0.149864	3	0.0499546	10.10	0.0006
Intra grupos	0.0791444	16	0.00494652		
Total (Corr.)	0.229008	19			

Para poder identificar de manera específica las diferencias entre grupos se realizó un Test de Tuckey con un nivel de confianza del 95%, indica que el grupo tratado con la ración alimenticia contenido proteico caseína y el grupo que recibió la ración alimenticia contenido proteico moringa-caseína son estadísticamente diferentes y con un CEC superior que los grupos tratados con ración alimenticia moringa y alimento balanceado, de lo que concluimos que los dos primeros tienen mayor coeficiente de eficacia de crecimiento.

Tabla N° 3.12 Comparaciones múltiples mediante Tuckey para del Coeficiente de Eficacia de Crecimiento (CEC) de las raciones experimentales

Grupo	CEC	Grupos homogéneos
GRCPM	0.87+/-0.07	A
GRCPC	1.05+/-0.1	B
GRCPMC	1.02+/-0.07	B
GRAB	0.85+/-0.1	A

***GRCPM: GRUPO RACIÓN CONTENIDO PROTEICO MORINGA; GRCPC: GRUPO RACIÓN CONTENIDO PROTEICO CASEÍNA; GRCPMC: GRUPO RACIÓN CONTENIDO PROTEICO MORINGA-CASEÍNA; GRCPAB: GRUPO RACIÓN CONTENIDO PROTEICO ALIMENTO BALANCEADO**

Muchas investigaciones han basado el enfoque de la calidad de proteína en estudios sobre roedores midiendo la "Relación de eficiencia de proteínas" (PER) o coeficiente de eficacia de crecimiento (CEC), como el aumento de peso dividido por la cantidad de proteína consumida, de diferentes fuentes de proteínas en dietas de roedores ⁽⁴⁸⁾.

Sobre la base de estos criterios, Sarwar et. Al (1984) y Cruz et. Al (2003) en una serie de estudios en roedores concluyeron que las proteínas de las plantas eran de baja calidad. Por ejemplo, se encontró que los índices de eficiencia de proteínas se encuentran dentro del rango de 1.2–2.4 para las proteínas vegetales (incluida la harina de arveja, proteína de soja, frijoles) y podrían ser tan bajos como 0.95 para la harina de trigo, mientras que las proteínas animales estaban en el rango de 3.1–3.7⁽⁴⁹⁾.

Los resultados obtenidos en la presente investigación muestran un Coeficiente de Eficacia de Crecimiento (CEC) por debajo del rango mencionado por Sarwar (1984), siendo similares a la harina de trigo, encontrándose entre 0.85 y 1.05⁽⁵⁰⁾.

Estudios realizados por Chapman et. Al (1959) en ratas machos Wistar de 20 a 23 días de edad reportó un CEC para huevo de 3.50, para leche 2.70, para caseína 2.50, para proteínas de cereal 0.03 y para proteínas de cereal más leche 1.96. Así mismo concluye que el valor de NPU es más variable que ECE, el cual muestra una mayor diferencia entre fuentes altas de proteínas y fuentes bajas, indicando además que es mejor que otras técnicas⁽⁵¹⁾.

El índice de eficiencia proteica mide la capacidad de una proteína para soportar el crecimiento de ratas jóvenes en crecimiento y se informa como el aumento de peso por gramo de proteína consumida. Como se ha discutido ampliamente en la literatura, las ratas tienen una mayor necesidad de azufre que contenga aminoácidos esenciales (His, Ile, Leu, Lis, Met, Phe, Thr, Trp and Val), por lo tanto, el método PER sobreestima los requisitos para los humanos y probablemente subestima la calidad de algunas proteínas, especialmente las proteínas vegetales⁽⁵²⁾.

La relación de proteína neta (NPR) es similar a al CEC, excepto que se toma en cuenta un factor adicional (pérdida de peso promedio de ratas alimentadas con una dieta sin proteínas). La calificación de proteínas es el producto del CEC de una proteína multiplicada por la cantidad de proteína en una ingesta diaria razonable.

Boye et. Al (2012) menciona además algunos cuestionamientos sobre el Coeficiente de Eficacia de Crecimiento (CEC) como el que las ratas tienen un requerimiento más alto que los humanos para algunos aminoácidos, que el método no acredita adecuadamente la proteína utilizada para fines de mantenimiento, que el

aumento de peso corporal no necesariamente corresponde al aumento de proteínas corporales, los valores de CEC varían con los niveles de ingesta de proteínas, existe una pobre precisión y reproducibilidad además de que los estudios en animales son caros ⁽⁴⁶⁾.

Según Chapman (1959) la determinación del índice de eficiencia proteica de un alimento como una medida del valor nutritivo está sujeta a dos críticas principales, en primer lugar, el método supone que no hay requerimiento proteico para el mantenimiento; a medida que se consumen mayores cantidades de proteínas, hay más disponible para el crecimiento y un resultado mayor CEC. En segundo lugar, el método supone que el aumento en el peso corporal es proporcional a la proteína retenida, esto puede no ser correcto ya que se ha informado que la composición del aumento de peso varía con el tipo de dieta. Sin embargo y a pesar de las críticas el valor CEC se ha convertido en el método más usado por su simplicidad en la evaluación del valor nutritivo de las proteínas en alimentos ⁽⁵¹⁾.

3.3.2. Coeficiente de Digestibilidad aparente (CDA)

Para el cálculo de este índice se resta la cantidad de nitrógeno presente en las heces al encontrado en el alimento; la determinación de la cantidad de nitrógeno presente en las heces se realizó mediante el método Kjeldahl.

$$CDV = \frac{AC \times NC - CH \times NE}{AC \times NC} \times 100$$

(Ecuación 2)

Como se observa en la Tabla N°3.13 de resultados del Coeficiente de digestibilidad aparente (CDA), se observa el total de alimento consumido en gramos que proviene de la sustracción del alimento brindado menos el remanente. Ya que todos tenían el mismo 21% de proteico, a todos los grupos les corresponde el mismo porcentaje de nitrógeno proteico. Además de apreciar el total de heces recolectada en los 21 días, así como el % de nitrógeno por cada gramo de heces.

El análisis descriptivo del CDA se aprecia en la Tabla N° 3.14, en orden decreciente se observa que el mayor valor para el CDA, corresponde al grupo tratado con la ración alimenticia contenido proteico caseína con 96.87%, luego se encuentra el grupo que recibió la ración alimenticia contenido proteico moringa-caseína con 95.73%, seguido por el grupo tratado con alimento balanceado y ración alimenticia moringa con 95.31 y 82.96 respectivamente, tal como lo representado en la Figura 3.2

Tabla 3.13 Coeficiente de Digestibilidad Aparente (CDA) de las raciones experimentales

Grupos*	Alimento total (g)	Residuo total (g)	%NC (g)	%NE (g)	CDA
GRCPM	144.2	3.36	43.5	1.56	85.99
GRCPM	134.1	3.36	45.2	1.95	80.44
GRCPM	139.4	3.36	45.9	1.47	85.59
GRCPM	136.2	3.36	45.5	1.85	81.61
GRCPM	131.3	3.36	45.2	1.84	81.15
GRCPC	190.6	3.36	21.1	1.1	96.38
GRCPC	183.5	3.36	15.3	1.3	96.77
GRCPC	184.3	3.36	19.9	1.1	96.47
GRCPC	184.5	3.36	18.9	0.9	97.26
GRCPC	185.5	3.36	18.5	0.85	97.48
GRCPMC	187.8	3.36	18.9	1.1	96.71
GRCPMC	188.8	3.36	21.5	1.4	95.26
GRCPMC	188.8	3.36	19.8	1.45	95.47
GRCPMC	186.5	3.36	23.5	1.36	94.9
GRCPMC	182.8	3.36	18.9	1.2	96.31
GRAB	172.8	3.36	21.8	1.3	95.12
GRAB	175.2	3.36	22.1	1.4	94.74
GRAB	177	3.36	22.7	1.2	95.42
GRAB	176.6	3.36	22.9	1.2	95.37
GRAB	175.4	3.36	22.1	1.1	95.88

***GRCPM: GRUPO RACIÓN CONTENIDO PROTEICO MORINGA; GRCPC: GRUPO RACIÓN CONTENIDO PROTEICO CASEÍNA; GRCPMC: GRUPO RACIÓN CONTENIDO PROTEICO MORINGA-CASEÍNA; GRAB: GRUPO RACIÓN CONTENIDO PROTEICO ALIMENTO BALANCEADO**

Tabla 3.14 Estadística descriptiva para el Coeficiente de Digestibilidad Aparente (CDA) de las raciones experimentales

	GRCPM	GRCPC	GRCPMC	GRAB
Recuento	5	5	5	5
Promedio	82.96	96.87	95.73	95.31
Desviación Estándar	2.6242	0.4833	0.7540	0.4188
Coefficiente de Variación	3.16%	0.50%	0.79%	0.44%
Mínimo	80.44	96.38	94.9	94.74
Máximo	85.99	97.48	96.71	95.88
Sesgo Estandarizado	0.4619	0.3303	0.3932	0.0161

***GRCPM: GRUPO RACIÓN CONTENIDO PROTEICO MORINGA; GRCPC: GRUPO RACIÓN CONTENIDO PROTEICO CASEÍNA; GRCPMC: GRUPO RACIÓN CONTENIDO PROTEICO MORINGA-CASEÍNA; GRPAB: GRUPO RACIÓN CONTENIDO PROTEICO ALIMENTO BALANCEADO**

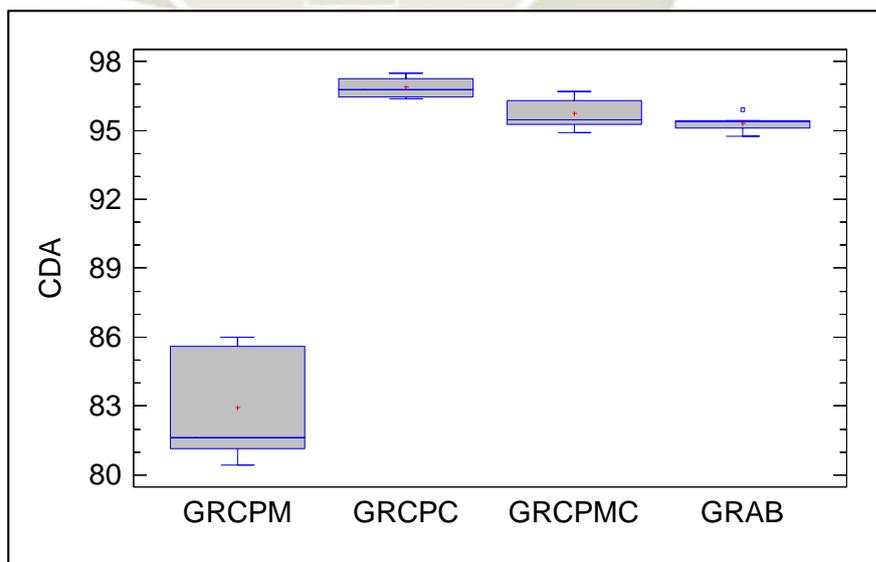


Figura 3.2. Coeficiente de Digestibilidad Aparente (CDA) de las Raciones Experimentales

El análisis de varianza mostrado en la Tabla 3.15 mostró un valor-p de 0.0000 ($p < 0.05$) indicando que existen diferencias estadísticamente significativas entre los coeficientes de digestibilidad aparente (CDA) de las raciones experimentales entre los cuatro grupos evaluados un 95% de confianza. Por ello y para identificar qué grupo fueron diferentes entre sí se procedió a realizar el test de Tuckey mostrado en la Tabla 3.16

Tabla N° 3.15 Análisis de varianza para el Coeficiente de Digestibilidad Aparente (CDA) de las raciones experimentales

	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrado medio	Razón- F	Valor- p
Entre grupos	641.611	3	213.87	108.78	0.0000
Intra grupos	31.4567	16	1.96604		
Total (Corr.)	673.068	19			

El test de Tuckey (Tabla 3.16) importante para ver de manera específica las diferencias entre grupos luego de una comparación par a par a un nivel de confianza del 95%, indica que el grupo tratado con la ración alimenticia contenido proteico caseína, el grupo que recibió la ración alimenticia contenido proteico moringa-caseína y el grupo alimento balanceado son estadísticamente diferentes y con un CDA superior al grupo tratado con ración alimenticia moringa y, de lo que concluimos que los tres primeros tienen mayor coeficiente de digestibilidad aparente.

El Comité de Expertos FAO / OMS 1991 recomendó el método estandarizado de equilibrio fecal de ratas como el más adecuado y práctico para predecir la digestibilidad de las proteínas. Como se señaló en el informe OMS / FAO / UNU 2007, aunque la digestibilidad fecal es probablemente la medida más adecuada de la digestibilidad global de nitrógeno, es poco probable que sea una verdadera medida de la digestibilidad de los aminoácidos. Las mediciones de digestibilidad a nivel del íleon pueden proporcionar una mejor medida de la digestibilidad de los aminoácidos, sin embargo, esto puede plantear desafíos importantes para muchos investigadores ⁽⁵³⁾.

Tabla N° 3.16 Comparaciones múltiples mediante Tuckey para Coeficiente de Digestibilidad Aparente (CDA) de las raciones experimentales

Grupo	CDA	Grupos homogéneos
GRCPM	82.96+/-3.26	A
GRCPC	96.87+/-0.6	B
GRCPMC	95.73+/-0.94	B
GRAB	95.31+/-0.52	B

***GRCPM: GRUPO RACIÓN CONTENIDO PROTEICO MORINGA; GRCPC: GRUPO RACIÓN CONTENIDO PROTEICO CASEÍNA; GRCPMC: GRUPO RACIÓN CONTENIDO PROTEICO MORINGA-CASEÍNA; GRCPAB: GRUPO RACIÓN CONTENIDO PROTEICO ALIMENTO BALANCEADO**

Los estudios en animales para determinar la verdadera digestibilidad de la proteína pueden ser costosos, por lo tanto, se necesitan métodos in vitro más baratos que estimen con precisión la verdadera digestibilidad de la proteína. Hsu et al. (1977) y Satterlee et al. (1979) desarrollaron un sistema in vitro multienzima que consiste en tripsina, quimotripsina y peptidasa. El pH de una suspensión de proteínas medida inmediatamente después de 10 minutos de digestión con la solución de multienzima a 37°C, o después de una incubación adicional de 10 minutos con proteasa microbiana a 55°C tuvieron una alta correlación con la digestibilidad fecal aparente in vivo de ratas (0.90 con un error estándar de estimación de 2.23 para el primer estudio) ⁽⁵⁴⁾.

Pedersen y Eggum (1983) desarrollaron un análisis de pH-stat en el que se usa la tasa inicial de consumo de álcali para calcular la tasa de hidrólisis de los enlaces peptídicos. McDonough et.al (1990) también estandarizaron un método de pH-stat para la digestibilidad in vitro. Varios estudios han informado de buenas correlaciones entre algunos de los métodos in vitro propuestos y la digestibilidad in vivo, sin embargo, algunas leguminosas parecen tener valores in vitro más altos en comparación con los valores in vivo ⁽⁵⁵⁾.

Carias et. Al (1995) utilizaron tres métodos in vitro (caída de pH, pH stat y digestibilidad de la pepsina) y dos métodos in vivo (digestibilidad fecal verdadera y aparente en ratas) para comparar la digestibilidad de la proteína de la caseína, el aislado

de proteína de soja y la harina de pescado, frijoles negros, harina de maíz y harina de trigo. Todos los métodos estuvieron de acuerdo con proteínas altamente digestibles pero estuvieron por debajo en aquellas con resultados de digestibilidades menores del 85%. Recomendando por ello, que para proteínas no convencionales o para proteínas conocidas sometidas a procesamiento, la digestibilidad de las proteínas se debe medir *in vivo* ⁽⁵⁶⁾.

Se necesitan estudios adicionales para determinar las condiciones bajo las cuales los métodos de digestibilidad *in vitro* pueden estimar la digestibilidad de la proteína aparente y / o verdadera. Además, la FAO / OMS de 1981 recomendó que las puntuaciones de aminoácidos se ajusten a la digestibilidad de la proteína "verdadera", por lo que se debe considerar la relevancia de usar la digestibilidad de la proteína "aparente" (o equivalentes) ⁽⁵⁷⁾.

Del mismo modo, algunos estudios han demostrado que la digestibilidad aparente varía con el nivel de ingesta de proteínas; por ello algunas consideraciones deben ser dadas de cómo la concentración de proteínas afecta los métodos de digestibilidad *in vitro* que estiman la digestibilidad aparente. Además, algunas investigaciones emergentes sugieren que la tasa de digestión de proteínas también puede ser importante en la calidad de las proteínas (Sarwar ,1997) ⁽⁵⁸⁾.

Friedman y Brandon en el 2001, demostraron que los factores anti nutricionales que se encuentran en muchas proteínas de las plantas pueden limitar la digestión de las proteínas, lo que resulta en una reducción en su eficiencia global final de utilización. Esto es particularmente importante en relación con los inhibidores de tripsina que se encuentran en muchos frijoles, cuyo efecto inhibitorio se reduce notablemente con el tratamiento térmico o la reducción química, lo que produce un cambio estructural (a través de los enlaces disulfuro) (Sarwar Gilani et. Al 2012) ⁽⁵⁹⁾.

Como argumentó Mitchell hace un siglo, y basado en series de experimentos clásicos de crecimiento en ratas, la proteína vegetal es más digestible cuando la fracción proteica es más pura y las estimaciones de digestibilidad más pobres se limitan a las leguminosas, pero esto depende del tratamiento térmico previo. Con respecto a las leguminosas, incluyendo el frijol blanco, el frijol lima y el frijol terciopelo, escribió "El valor de estas proteínas en experimentos de crecimiento en

ratas dependía en gran medida de si las proteínas estaban cocidas o no cocidas" (Mitchell, 1923) ⁽⁴⁶⁾.

3.3.3. Coeficiente de Digestibilidad verdadera (CDV)

Este índice considera que parte del nitrógeno eliminado por las heces es de origen endógeno y no procede exclusivamente del no absorbido desde la dieta. Por lo que es necesario determinar el nitrógeno endógeno, para este objetivo se formó un grupo al que se le dio una dieta apteica, conformada por aceite, azúcar y multivitamínicos. Este grupo estuvo conformado por 5 animales, y se administró esta dieta solamente durante 10 días. La fórmula utilizada para el cálculo de este índice fue la Ecuación 3.

Como se observa en la Tabla N° 17 de resultados del Coeficiente de digestibilidad verdadera (CDV), para este cálculo se consideró un grupo que no recibió proteínas en su dieta, fue el grupo apteico (GA en el cuadro) este grupo solo recibió aceite, azúcar y multivitamínicos, este grupo fue referente para el cálculo de la CDV por lo que no se calcula este índice para este último grupo.

El análisis descriptivo del CDV se aprecia en la Tabla N° 18, en orden decreciente se observa que el mayor valor para el CDV, corresponde al grupo tratado con la ración alimenticia contenido proteico caseína con 98.86%, luego se encuentra el grupo que recibió la ración alimenticia contenido proteico moringa-caseína con 97.09%, seguido por el grupo tratado con alimento balanceado y ración alimenticia moringa con 96.76 y 84.82% respectivamente.

$$CDV = \frac{AC \times NC - ((CH \times NE) - PE)}{AC \times NC} \times 100$$

(Ecuación 3)

Tabla 3.17 Coeficiente de Digestibilidad Verdadera (CDV) de las raciones experimentales

Grupos*	Alimento total (g)	Residuo total (g)	%N Ingerido (g)	% N Excretado (g)	CDV
GA	83.2	0	18.9	0.48	---
GA	82.5	0	18.7	0.44	---
GA	82.5	0	18.2	0.5	---
GA	79.7	0	18.1	0.38	---
GA	82.5	0	18.7	0.52	---
GRCPM	144.2	3.36	43.5	1.56	87.77
GRCPM	134.1	3.36	45.2	1.95	82.35
GRCPM	139.4	3.36	45.9	1.47	87.43
GRCPM	136.2	3.36	45.5	1.85	83.48
GRCPM	131.3	3.36	45.2	1.84	83.1
GRCPC	190.6	3.36	21.1	1.1	97.72
GRCPC	183.5	3.36	15.3	1.3	98.17
GRCPC	184.3	3.36	19.9	1.1	97.85
GRCPC	184.5	3.36	18.9	0.9	98.64
GRCPC	185.5	3.36	18.5	0.85	98.86
GRCPMC	187.8	3.36	18.9	1.1	98.07
GRCPMC	188.8	3.36	21.5	1.4	96.61
GRCPMC	188.8	3.36	19.8	1.45	96.83
GRCPMC	186.5	3.36	23.5	1.36	96.27
GRCPMC	182.8	3.36	18.9	1.2	97.71

***GRCPM: GRUPO RACIÓN CONTENIDO PROTEICO MORINGA; GRCPC: GRUPO RACIÓN CONTENIDO PROTEICO CASEÍNA; GRCOM: GRUPO RACIÓN CONTENIDO PROTEICO MORINGA-CASEÍNA; GRAB: GRUPO RACIÓN CONTENIDO PROTEICO ALIMENTO BALANCEADO**

Tabla 3.18 Estadística descriptiva del Coeficiente de Digestibilidad Verdadera (CDV) de las raciones experimentales

	GRCPM	GRCPC	GRCPMC
Recuento	5	5	5
Promedio	84.83	98.25	97.1
Desviación Estándar	2.56755	0.492818	0.760736
Coefficiente de Variación	3.03%	0.50%	0.78%
Mínimo	82.35	97.72	96.27
Máximo	87.77	98.86	98.07
Sesgo Estandarizado	0.458731	0.250226	0.383966

***GRCPM: GRUPO RACIÓN CONTENIDO PROTEICO MORINGA; GRCPC: GRUPO RACIÓN CONTENIDO PROTEICO CASEÍNA; GRCOM: GRUPO RACIÓN CONTENIDO PROTEICO MORINGA-CASEÍNA; GRAB: GRUPO RACIÓN CONTENIDO PROTEICO ALIMENTO BALANCEADO**

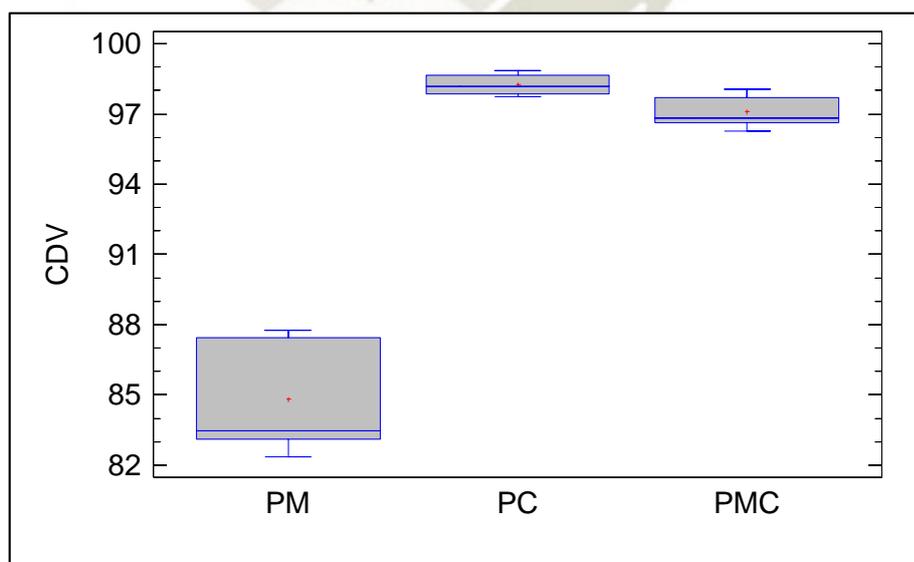


Figura 3.3. Coeficiente de Digestibilidad Verdadera (CDV) de las raciones Experimentales.

El análisis de varianza, (Tabla 3.19) realizado para identificar las diferencias o semejanzas estadísticamente significativas entre grupos, arroja una significancia igual a 0.000 por lo que se rechaza la hipótesis de igualdad de medias, de lo que se concluye que existen diferencias en cuanto al coeficiente de digestibilidad verdadera (CDV) entre los cuatro grupos experimentales que recibieron las distintas raciones alimenticias.

Tabla 3.19 Análisis de varianza del Coeficiente de Digestibilidad Verdadera (CDV) de las raciones experimentales

	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-p
Entre grupos	553.458	2	276.729	111.98	0.0000
Intra grupos	29.6557	12	2.47131		
Total (Corr.)	583.113	14			

Tabla N°3.20 Comparaciones múltiples mediante Tuckey para del Coeficiente de Digestibilidad Verdadera (CDV) de las raciones experimentales

Grupo	CDV	Grupos homogéneos
GRCPM	84.83	A
GRCPC	98.25	B
GRCPMC	97.1	B

***GRCPM: GRUPO RACIÓN CONTENIDO PROTEICO MORINGA; GRCPC: GRUPO RACIÓN CONTENIDO PROTEICO CASEÍNA; GRCPMC: GRUPO RACIÓN CONTENIDO PROTEICO MORINGA-CASEÍNA; GRCPAB: GRUPO RACIÓN CONTENIDO PROTEICO ALIMENTO BALANCEADO**

El test de Tuckey (Tabla N° 3.20) importante para ver de manera específica las diferencias entre grupos luego de una comparación par a par a un nivel de confianza del 95%, indica que el grupo tratado con la ración alimenticia contenido proteico caseína y el grupo que recibió la ración alimenticia contenido proteico moringa-caseína son estadísticamente diferentes y con un CDV superior al grupo tratado con

ración alimenticia moringa y, de lo que concluimos que caseína y moringa-caseína tienen mayor coeficiente de digestibilidad verdadera.

Las investigaciones en animales y humanos también han generado muchos datos con respecto a la digestibilidad de las proteínas vegetales, y han ayudado a comprender los principales factores en cuestión. Los datos en humanos reportados por la FAO/OMS /ONU en el 2007, han indicado un rango de valores para la proteína vegetal, con la mayoría de las fuentes vegetales que muestran una digestibilidad verdadera dentro del rango de 80% a 90%, aunque algunas de fuentes específicas son más bajas, por ejemplo, arroz, cereal: 75% y arroz, pulido: 88%; y algunos más altos, por ejemplo: trigo, refinado: 96%, aislado de proteína de soja: 95% ⁽²²⁾.

Los valores de digestibilidad verdadera de la dieta a base de moringa (84.82%) se encuentran dentro del rango reportado por la FAO y la digestibilidad verdadera de la dieta balanceada (96.76%), la dieta de moringa-caseína (97.09%) y caseína (98.24%) se encuentran por sobre el rango mencionado. Presentando por lo tanto la dieta a base de proteína de moringa- caseína una digestibilidad estadísticamente similar a la de caseína ⁽²²⁾.

La digestibilidad de la carne, el pescado, la leche o los huevos alcanza el 95%. La digestibilidad suele ser mayor para los productos refinados (por ejemplo, harina de soja: 86% y aislado de proteína de soja: 95%) (FAO / OMS / UNU, 2007; Boye et al., 2012) ⁽²²⁾.

Sin embargo, según Mariotti (2017), la digestibilidad *fecal* verdadera no es la mejor medida de la digestibilidad de la proteína dietética. La cantidad de nitrógeno ingerido de proteínas que se absorbe en el intestino delgado refleja mejor la cantidad de aminoácidos disponibles para el metabolismo corporal antes de que la proteína ingrese al colon, y esta medida se conoce como "digestibilidad ileal". Además, el nitrógeno que se encuentra después del colon o el íleon se origina a partir de fuentes endógenas y dietéticas, por lo que el cálculo de digestibilidad requiere que una estimación de las pérdidas de nitrógeno endógeno se reste de las pérdidas totales. Cuando se consideran pérdidas basales (endógenas), esto constituye una "digestibilidad verdadera", pero cuando las pérdidas endógenas / dietéticas precisas pueden estimarse directamente, esto se denomina "digestibilidad real" ⁽⁶¹⁾.

La digestibilidad ileal real se ha evaluado en humanos durante los últimos 20 años. Usando métodos sofisticados, *Tomé* en el 2013, realizó estudios que informaron que la digestibilidad ileal real de varias proteínas de la dieta estaba dentro del rango de 89% a 95%. Para el aislado de proteína de soja, harina de proteína de guisante, harina de trigo y harina de lupino, las cifras fueron de 89% a 92%; estos fueron similares a los encontrados para los huevos (91%) o carne (90% -94%), y ligeramente más bajos que los reportados para la proteína de la leche (95%) ⁽¹⁶⁾.

Es importante tener en cuenta que la mayoría de las proteínas vegetales estudiadas provienen de fuentes crudas, sin tratar (sin calentar o mínimamente calentadas), y algunas se ingirieron en matrices complejas de alimentos como la harina (sin calentar). Los datos en ratas y cerdos realizados por *Gilani y Sepehr* (2003) y *Clemente*. El (2012) han demostrado que el tratamiento con calor moderado reduce la actividad inhibidora de la tripsina en las leguminosas y aumenta la accesibilidad de la mayoría de las proteínas a las enzimas proteolíticas, mejorando con ello la digestibilidad ⁽³¹⁾.

Además, *Mariotti et al* (2001) demostró que la globulina de guisante sola, la mayor fracción proteica, tiene una alta digestibilidad del 94%, mientras que la proteína del guisante total (es decir, globulina más albúmina) tenía una digestibilidad del 90%. Dado que la fracción de albúmina contiene todos los inhibidores de la tripsina, esta proteína muestra la estructura más resistente a la hidrólisis ⁽⁶¹⁾.

Finalmente, las diferencias encontradas entre la digestibilidad de las proteínas vegetales y las proteínas animales parecen ser pequeñas, contrariamente a los hallazgos históricos en ratas o cerdos, o las determinaciones que usan métodos menos precisos en humanos ⁽²²⁾.

En un estudio realizado por *Gaudichon et.al* (2002) que comparó la digestibilidad ileal de aminoácidos de la soja y las proteínas de la leche, la digestibilidad promedio fue del 94% para la soja, con aminoácidos individuales dentro del rango del 89+/-5% y 97+/- 3%, mientras que para la leche la cifra promedio fue del 95% y los valores oscilaron entre el 92% y el 99% con respecto a la digestibilidad de los aminoácidos individuales (*Gaudichon et al.*, 2002) ⁽⁶²⁾.

3.3.4. Utilización neta de proteínas (NPU)

$$NPU = \frac{N \text{ muestra} - N \text{ conocido}}{\text{Ingesta } N}$$

(Ecuación 4)

Donde:

N muestra= Contenido de N corporal con la proteína a probar

N conocido= Contenido de N corporal con dieta libre N

El nitrógeno corporal se halló multiplicando el contenido de N (%) por el peso de la carcasa (g). La ingesta de la N se halla multiplicando el contenido de N (%) por el consumo de alimento (g).



Figura 3.4 Muestra de la carcasa de *Rattus Novegicus*

Como se observa en Tabla N° 3.21 de resultados de la Utilización Neta de Proteínas (NPU), aparece la información relacionada al peso de carcasa y contenido de nitrógeno presente en la carcasa de rata, tal como se explicitó en la parte de métodos para este cálculo se realizó sobre el mínimo necesario de animales de experimentación

ya que exige sacrificio del animal, es por ello que se sortearon 3 animales por grupo además del grupo apteico (GA no figura en el cuadro) este grupo solo recibió aceite, azúcar y multivitamínicos, este grupo fue referente para el cálculo de la NPU por lo que no se calcula este índice para este último grupo. De lo que resultó un total de 15 animales de experimentación, el cuadro muestra el peso en gramos de la carcasa ⁽⁶³⁾.

El análisis descriptivo de la NPU se aprecia en Tabla N°3.22, en orden decreciente se observa que el mayor valor para la NPU, corresponde al grupo tratado con la ración alimenticia alimento balanceado con 67.33+/-11.97%, seguido del grupo contenido proteico moringa-caseína con 63.25+/-1303%, luego el grupo con ración proteica de caseína con 59.47+/-4.09%, luego se encuentra el grupo que recibió la ración alimenticia contenido proteico moringa con 40.40+/-4.68%.

Tabla N °3.21 Utilización neta de proteínas (NPU) de las raciones experimentales

M	Grupos*	Consumo alimento g	N ingerido %	Peso carcasa (g)	N % en carcasa	NPU
M8	GCPC	139.4	3.36	19.3	8.8	38.23
M9	GCPC	136.2	3.36	20.8	8.7	41.54
M10	GCPC	131.3	3.36	20.3	8.9	41.45
M11	GCPC	190.6	3.36	23.3	10.5	60.49
M12	GCPC	183.5	3.36	21.8	11.2	60.35
M14	GCPC	184.5	3.36	22.8	10.3	57.57
M17	GCPC	188.8	3.36	24.2	10.9	66.18
M18	GCPC	188.8	3.36	23.4	11.3	66.38
M19	GCPC	186.5	3.36	22.9	10.2	57.2
M21	GRAB	172.8	3.36	24.4	10.5	63.93
M22	GRAB	175.2	3.36	25.1	11.4	72.84
M24	GRAB	176.6	3.36	23.9	10.9	65.21

***GRCPC: GRUPO RACIÓN CONTENIDO PROTEICO MORINGA; GRCPB: GRUPO RACIÓN CONTENIDO PROTEICO CASEÍNA; GRCPMC: GRUPO RACIÓN CONTENIDO PROTEICO MORINGA-CASEÍNA; GRCPAB: GRUPO RACIÓN CONTENIDO PROTEICO ALIMENTO BALANCEADO**

Tabla N° 3.22 Estadística descriptiva de la Utilización neta de proteínas (NPU) de las raciones experimentales

	GRCPM	GRCPC	GRCPMC	GRAB
Recuento	3	3	3	3
Promedio	40.41+/- 4.68	59.47+/- 4.09	63.25+/- 13.03	67.33+/- 11.97
Desviación Estándar	1.885	1.6470	5.2433	4.8174
Coefficiente de Variación	4.67%	2.77%	8.29%	7.16%
Mínimo	38.23	57.57	57.2	63.93
Máximo	41.54	60.49	66.38	72.84
Sesgo Estandarizado	-1.22161	-1.2148	-1.22274	1.12819

***GRCPM: GRUPO RACIÓN CONTENIDO PROTEICO MORINGA; GRCPC: GRUPO RACIÓN CONTENIDO PROTEICO CASEÍNA; GRCMC: GRUPO RACIÓN CONTENIDO PROTEICO MORINGA-CASEÍNA; GRCPAB: GRUPO RACIÓN CONTENIDO PROTEICO ALIMENTO BALANCEADO**

Tabla N° 3.23 Análisis de varianza de la Utilización neta de proteínas (NPU) de las raciones experimentales

	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-p
Entre grupos	1277.03	3	425.675	29.89	0.0001
Intra grupos	113.934	8	14.2418		
Total (Corr.)	1390.96	11			

El análisis de varianza (cuadro N° 23) ejecutado en el programa SPSS necesario para ver las diferencias o semejanzas estadísticamente significativas entre grupos, arroja una significancia igual a 0.0001 por lo que se rechaza la hipótesis de igualdad de medias, de lo que se concluye que existen diferencias en cuanto a la

Utilización Neta de Proteínas (NPU) entre los cuatro grupos experimentales que recibieron las distintas raciones alimenticias.

El test de Tuckey (Tabla N° 3.24) importante para ver de manera específica las diferencias entre grupos luego de una comparación par a par a un nivel de confianza del 95%, indica que el grupo tratado con la ración alimenticia de alimento balanceado presentó un mayor valor de NPU con 67.33%, seguido del grupo con moringa caseína (63.25%), ración a base de caseína (59.47%) y la ración con moringa como fuente proteica (40.41%)

Tabla N°3.24 Comparaciones múltiples mediante Tuckey para la Utilización neta de proteínas (NPU) de las raciones experimentales

Grupo	ECE	Grupos homogéneos
GRCPM	40.41+/-4.68	A
GRCPC	59.47+/-4.09	B
GRCPMC	63.25+/-13.03	B
GRAB	67.33+/-11.97	B

***GRCPM: GRUPO RACIÓN CONTENIDO PROTEICO MORINGA; GRCPC: GRUPO RACIÓN CONTENIDO PROTEICO CASEÍNA; GRCPMC: GRUPO RACIÓN CONTENIDO PROTEICO MORINGA-CASEÍNA; GRCPAB: GRUPO RACIÓN CONTENIDO PROTEICO ALIMENTO BALANCEADO**

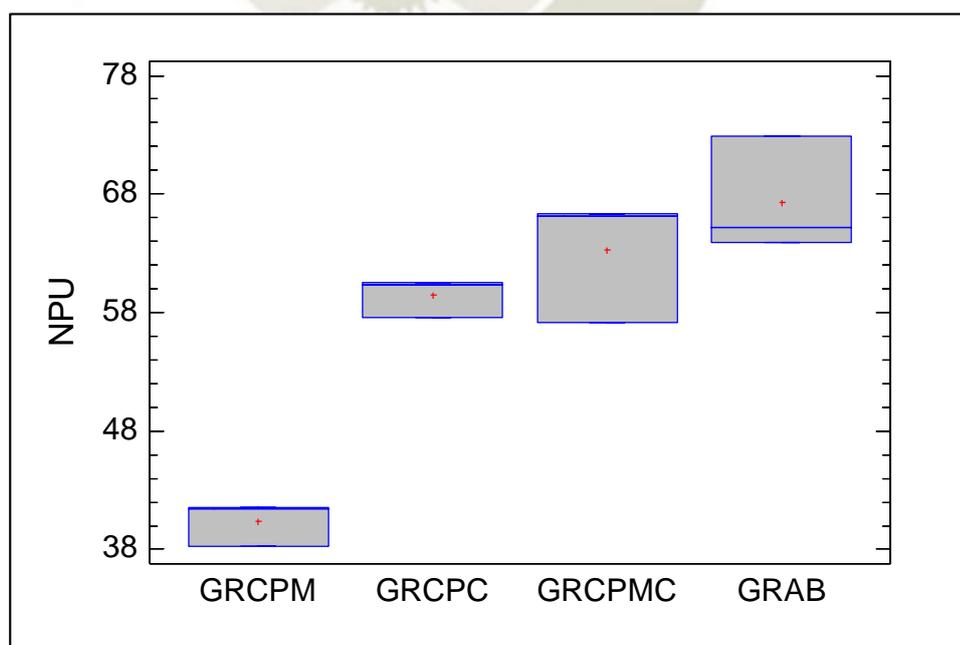


Figura 3.5 Utilización neta de proteínas (NPU) de las raciones experimentales.

Según Boye et al (2012) la NPU proporciona una medida de la utilización general de proteínas y refleja la proporción de proteínas ingeridas retenidas. Debido a las limitaciones de los modelos animales, durante mucho tiempo se ha argumentado que la calidad de la proteína debe evaluarse en humanos. Basándose en el principio de los estudios de balance de nitrógeno, la utilización de una proteína puede evaluarse en humanos midiendo las pérdidas de nitrógeno (N) fecal y urinario ⁽⁴⁶⁾.

Los resultados obtenidos de menor NPU para la ración a base solamente de moringa concuerdan con lo señalado por Young (1975) en el cual los resultados de sus estudios han confirmado que algunas proteínas vegetales tienen una menor utilización, en particular ciertos frijoles y trigo (FAO / OMS, 1973; Alford y Onley, 1978; Young et al., 1975) ⁽⁶⁵⁾.

Estudios realizados por Young et. Al (1975) demostraron que cuando se comparó con la proteína del huevo, la utilización neta de proteínas del trigo se estimó en un 41% siendo la lisina el aminoácido limitante en el trigo según Bailey y Clark (1976). Esto puede ser explicado con la investigación realizada por Anhwange et. Al (2004) los cuales reportaron la composición de aminoácidos en las semillas de moringa indicando que en mayor proporción se encontró el ácido glutámico (14.43g/100g de proteína) seguido de ácido aspártico, leucina, glicina, fenilalanina, serina, y lisina con 3.21 g/100g de proteína, estando los demás aminoácidos por debajo de este valor, pudiendo ser lisina el aminoácido limitante de moringa ⁽⁶³⁾.

Sin embargo, algunas proteínas vegetales han producido buenos resultados, comparables a los obtenidos con proteínas animales. Por ejemplo, Young et. Al (1984) informó que el amaranto tenía una utilización de proteína neta que era del 89% de la proteína de queso, y el lupino una utilización de proteína neta que fue del 77% de la proteína de huevo, que es comparable al valor encontrado para la carne de res (78 %). Del mismo modo, el aislado de proteína de soja tiene la misma utilización general que las proteínas de leche, huevo o carne de res ⁽⁶⁴⁾.

Así mismo, Young mencionó que una mezcla de fuentes de proteínas vegetales con una inclusión de pequeñas cantidades de proteínas animales (como la leche) puede dar como resultado un equilibrio adecuado de nitrógeno a un nivel de ingesta similar al de las proteínas animales, lo que indica su buena utilización para el mantenimiento de

proteínas corporales. Esto explicaría el hecho de que la ración a base de moringa caseína presente mayor NPU que raciones a base de moringa sola o de caseína sola (65).

3.3.5. Valor biológico (VB)

El cuadro N° 25 de resultados del valor biológico de proteínas (VB), que resulta de la relación entre el NPU y el CDV, este indicador resulta importante para el caso de alimentos con contenido proteico.

Tabla N° 3.25 Valor Biológico de Proteínas (VB) de las raciones experimentales

M	Grupos*	CDV	NPU	VB
M8	GRCPM	87.4707979	38.23	0.44
M9	GRCPM	83.5267687	41.54	0.5
M10	GRCPM	83.14026	41.45	0.5
M11	GRCPC	97.748061	60.49	0.62
M12	GRCPC	98.1994003	60.35	0.61
M14	GRCPC	98.6737357	57.57	0.58
M17	GRPMC	96.6404709	66.18	0.68
M18	GRPMC	96.8595866	66.38	0.69
M19	GRPMC	96.3022185	57.2	0.59
M21	GRCPAB	96.6325339	63.93	0.66
M22	GRCPAB	96.2369914	72.84	0.76
M24	GRCPAB	96.8499269	65.21	0.67

***GRCPM: GRUPO RACIÓN CONTENIDO PROTEICO MORINGA; GRCPC: GRUPO RACIÓN CONTENIDO PROTEICO CASEÍNA; GRCPMC: GRUPO RACIÓN CONTENIDO PROTEICO MORINGA-CASEÍNA; GRCPAB: GRUPO RACIÓN CONTENIDO PROTEICO ALIMENTO BALANCEADO**

El análisis descriptivo del VB se aprecia en el cuadro N° 26, en orden decreciente se observa que el mayor valor biológico, corresponde al grupo tratado con la ración alimenticia alimento balanceado con 0.69%, seguido del grupo contenido proteico moringa-caseína con 0.65%, luego el grupo con ración proteica de caseína con 0.60%, luego se encuentra el grupo que recibió la ración alimenticia contenido proteico moringa con 0.47%.

Tabla 3.26 Estadística descriptiva del Valor Biológico de Proteínas (VB) de las raciones experimentales

	GRCPM	GRCPC	GRCPMC	GRAB
Recuento	3	3	3	3
Promedio	0.48+/-0.09	0.6+/-0.05	0.65+/-0.14	0.7+/-0.14
Desviación Estándar	0.034641	0.0208167	0.0550757	0.0550757
Coefficiente de Variación	7.22%	3.45%	8.43%	7.91%
Mínimo	0.44	0.58	0.59	0.66
Máximo	0.5	0.62	0.69	0.76
Sesgo Estandarizado	-1.22474	-0.914531	-1.17948	1.17948

***GRCPM: GRUPO RACIÓN CONTENIDO PROTEICO MORINGA; GRCPC: GRUPO RACIÓN CONTENIDO PROTEICO CASEÍNA; GRCPMC: GRUPO RACIÓN CONTENIDO PROTEICO MORINGA-CASEÍNA; GRCPAB: GRUPO RACIÓN CONTENIDO PROTEICO ALIMENTO BALANCEADO**

Tabla 3.27 Análisis de varianza del Valor Biológico de Proteínas (VB) de las raciones experimentales

	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-p
Entre grupos	0.0789667	3	0.0263222	13.67	0.0016
Intra grupos	0.0154	8	0.001925		
Total (Corr.)	0.0943667	11			

El análisis de varianza (Tabla N° 3.27) arroja una significancia igual a 0.0016 por lo que se rechaza la hipótesis de igualdad de medias, de lo que se concluye que existen diferencias en cuanto al Valor Biológico (VB) entre los cuatro grupos experimentales que recibieron las distintas raciones alimenticias.

El test de Tuckey (Tabla N° 3.28) calculado para ver de manera específica las diferencias entre grupos luego de una comparación par a par a un nivel de confianza del 95%, indica que el grupo tratado con la ración alimenticia contenido proteico

caseína, el grupo que recibió la ración alimenticia contenido proteico moringa-caseína y el grupo alimento balanceado son estadísticamente diferentes y con un VB superior al grupo tratado con ración alimenticia moringa y de lo que concluimos que los tres primeros tienen mayor Valor Biológico.

Tabla N° 3.28 Comparaciones múltiples mediante Tuckey para Valor Biológico de Proteínas (VB) de las raciones experimentales

Grupo	ECE	Grupos homogéneos
GRCPM	0.48+/-0.09	A
GRCPC	0.6+/-0.05	B
GRCPMC	0.65+/-0.14	B
GRCPAB	0.7+/-0.14	B

***GRCPM: GRUPO RACIÓN CONTENIDO PROTEICO MORINGA; GRPCPC: GRUPO RACIÓN CONTENIDO PROTEICO CASEÍNA; GRCPMC: GRUPO RACIÓN CONTENIDO PROTEICO MORINGA-CASEÍNA; GRCPAB: GRUPO RACIÓN CONTENIDO PROTEICO ALIMENTO BALANCEADO**

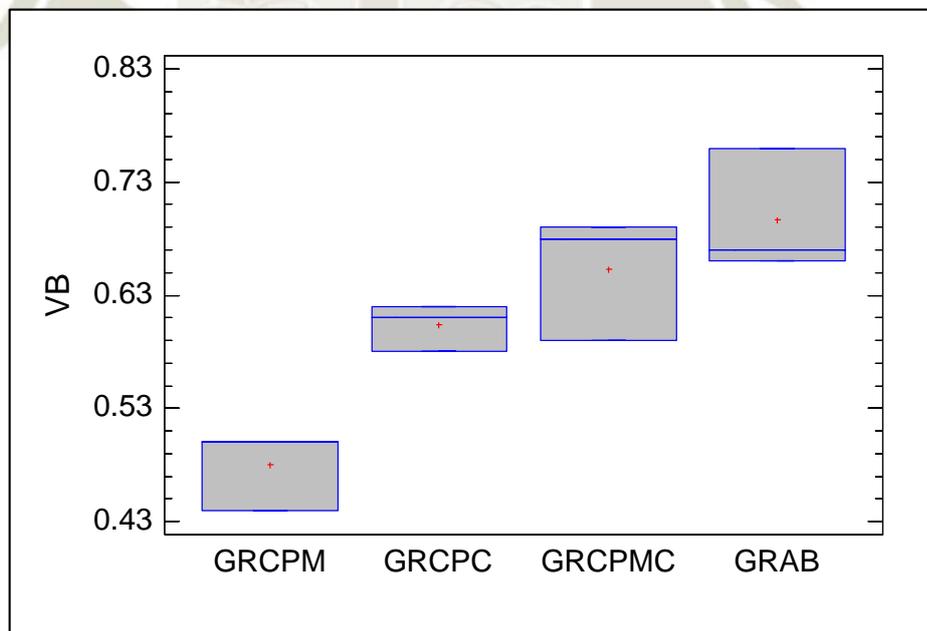


Figura 3.6 Valor Biológico de Proteínas (VB) de las raciones experimentales.

Según Boye (2012), el valor biológico, por otro lado, proporciona una medida de qué también el perfil de aminoácidos absorbido coincide con el del requisito. Los desafíos asociados con la VB incluyen los siguientes: los resultados para

el mismo alimento varían significativamente según la ingesta de N; los resultados para diferentes alimentos pueden ser similares a una ingesta baja de N y muy diferentes a niveles de ingesta más altos; las proteínas que están completamente desprovistas de un aminoácido esencial pueden tener un VB de hasta el 40%; el método ignora la importancia de los factores que influyen en la digestión de la proteína. La interacción de la proteína con otros factores de la dieta antes de ser absorbidos ⁽⁸⁾.

Según Boye (2012) la digestibilidad y biodisponibilidad de aminoácidos influyen en la calidad de la proteína. Existe la preocupación de que las mediciones de digestibilidad de proteínas pueden no proporcionar una estimación precisa de la digestibilidad de aminoácidos esenciales específicos. Por lo tanto, se necesita mayores investigaciones para determinar en qué medida la digestibilidad de la proteína en su conjunto (in vivo o in vitro) refleja la digestibilidad de un aminoácido esencial específico y cómo esto puede verse afectado por el procesamiento, los efectos de la matriz y otros factores bióticos y abióticos ⁽⁸⁾.

Un reporte de la Organización Mundial de la Salud (2007) menciona que para que el constituyente aminoacídico sea liberado, las proteínas primero deben ser digeridas. Una posible excepción es en los neonatos en los que puede ocurrir cierta captación de proteínas o péptidos intactos desde la luz intestinal hacia la circulación sistémica. La digestibilidad generalmente se define en términos del equilibrio de aminoácidos a través del intestino delgado (boca a íleon terminal: digestibilidad ileal), o a través de todo el intestino (boca a ano: digestibilidad fecal), basado en el principio de que la diferencia entre ingesta y pérdidas proporciona una medida de la extensión de la digestión y la absorción de proteínas de los alimentos como aminoácidos por el tracto gastrointestinal para uso del cuerpo.

Este balance neto a través del tracto digestivo es un proceso complejo que implica un intercambio considerable de nitrógeno en términos de proteína, aminoácidos y urea entre las reservas sistémicas y la luz intestinal (FAO 2007). Pueden darse grandes diferencias entre la digestibilidad de una proteína y el aminoácido específico, especialmente cuando existen factores anti nutricionales, como en los cereales y legumbres crudos, según Gilani y seperth (2003) ⁽³¹⁾.

CONCLUSIONES

Primera

El contenido proteico de las hojas secas de *Moringa oleifera* (Moringa), fue de 25.82 +/- 2.10, mediante el Método Kjeldahl.

Segunda

Utilizando el Método de Pearson se formuló tres raciones alimenticias experimentales para roedores todas cumpliendo el requerimiento diario de contenido proteico para ratas de 21%. La primera ración fue contenido proteico moringa en donde las hojas de moringa aportaban el 18.84% de proteínas y en el total de la mezcla fue de 583 g de un total de 800 g. La ración de contenido proteico caseína, la caseína constituida el 14.18% de 21%, y en la mezcla era 118 g de 800 g, finalmente se hizo una ración compleja con moringa y caseína ambas con 98g para un total de 800 g.

Tercera

La digestibilidad *in vivo* para la ración que incorpora hojas de moringa tuvo como índices de digestibilidad proteica los siguientes: CEC= 0.866; CDA= 82.95%; CDV= 84.8245%; NPU= 404.40% y un VB= 0.4776.

Cuarta

Luego de evaluar el polvo de hojas de moringa incorporado en una ración alimenticia para ratas mediante los índices de digestibilidad proteica, el análisis estadístico conocido como Test de Tuckey a un nivel de significancia de 0.05, señalan que la ración alimenticia con contenido proteico moringa (GRCPM), no tiene índices de digestibilidad (CEC, CDA, CDV, NPU y VB) comparados a una ración con caseína, y que el grupo con contenido proteico moringa-caseína si tiene una digestibilidad similar al grupo con ración contenido proteico caseína (GRPCPC) a pesar que en este grupo la caseína se encontraba en menor proporción que en el grupo que tenía una ración solo con caseína.

SUGERENCIAS

Primera

Realizar una evaluación para determinar la toxicidad aguda así como la dosis tóxica letal en animales de experimentación para el polvo de hojas de *Moringa oleífera* (Moringa).

Segunda

Efectuar un estudio para determinar la composición de aminoácidos esenciales y no esenciales para el polvo de hojas de *Moringa oleífera* (Moringa)

Tercera

Elaborar un alimento a base de harina (galleta, pan, fideo, etc.) que incorpore las hojas de *Moringa oleífera* (Moringa) y evaluar su palatabilidad y grado de aceptabilidad de parte de consumidores.

REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

1. Anhwange BA, Ajibola VO, Oniye SJ Chemical studies of the seeds of *Moringa oleifera* (Lam) and *Detarium microcarpum*. 2004
2. Brack Egg Antonio: Diccionario Enciclopédico de Plantas Útiles del Perú. 1ª Edición. 1999.
3. Watson L., Dallwitz M.: The families of flowering plants. Diciembre 2001. William J. Marshall Stephen: Bioquímica Clínica. 7ª Edición. 2012. Editorial Elsevier, Barcelona, España.
4. Bruneton J.: Farmacognosia Fitoquímica Plantas Medicinales. 2ª Edición. Editorial Acribia S.A. 2001
5. Bravo Díaz Luis: Farmacognosia. 1ª Edición. Editorial Elsevier. Madrid, España. 2003
6. Alonso Jorge, Tratado de Fitomedicina Bases Clínicas y Farmacológicas. 1ª Edición. Editorial ISIS. Argentina, 2004
7. Olson M .Ecology&Evolutionary Biology Conservatory:Moringa Olifeira.diciembre 2001.
8. Holst, .Moringa:Nature s Medicine Cabinet. USA, Sierra sunrise books. 2000
9. Badui Dergal Salvador (Dir.): Química de los Alimentos. 5ª Edición. Editorial Pearson, México. 2012
10. Nelson D., Cox M.: Lehninger Principios de Bioquímica. 5ª Edición. 2009
11. Baynes J., Dominizak M.: Bioquímica Médica. 4ª Edición. Editorial Elsevier, Barcelona, España. 2014
12. Biesalski & Grimm: Nutrición Texto y Atlas. 1ª Edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires: Madrid. 2007
13. Young, V.R., Fajardo, L., Murray, E., Rand, W.M., Scrimshaw, N.S., 1975. Protein requirements of man: comparative nitrogen balance response within the submaintenance-to-maintenance range of intakes of wheat and beef proteins. *J. Nutr.* 105, 534–542

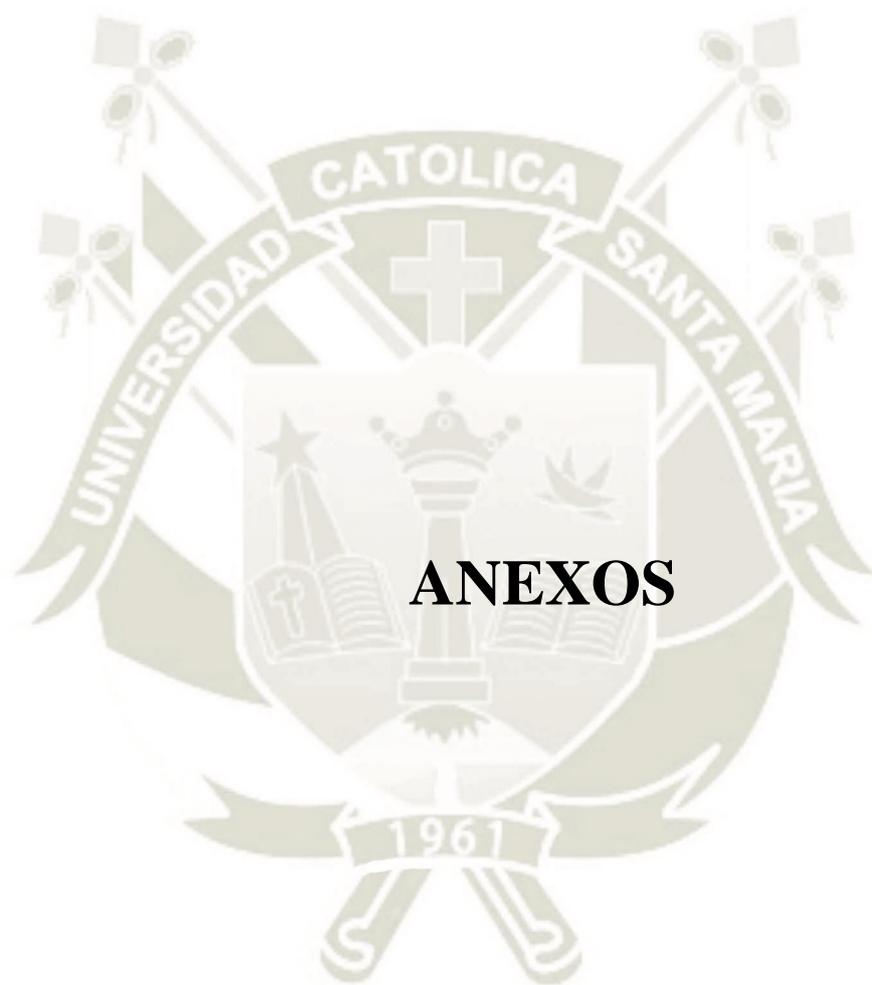
14. Satterlee DL, Marshall HF & Tennyson JM (1979) Measuring protein quality. J Am Oil Chem Soc 56, 103–109.
15. Lehninger A., Nelson D., Cox M., Principio de Bioquímica, 2a ed. EE.UU, Worth Publishers.
16. Duke J. Handook of energy Crop. Diciembre 2001
17. Yufera P.: Química de los Alimentos. Editorial Sintesis. 1998.
18. Ziegler E., Filer L.: Conocimientos actuales sobre nutrición. Internacional Life Siencie Institute. 7ª ed. 1997.
19. Tomé, D., 2013. Digestibility issues of vegetable versus animal proteins: protein and amino acid requirements – functional aspects. Food Nutr. Bull. 34, 272–274
20. FAO, Dietary Protein Quality Evaluation in Human Nutrition Report of an FAO Expert Consultation. March 31–April 2, 2011, Auckland, New Zealand. FAO, Rome, Italy. Food and Nutrition Paper 92. 2013
21. FAO/WHO: Energy and Protein Requirements. Report of a Joint FAO/WHO Ad Hoc Expert Committee. World Health Organization, Geneva. WHO Technical Report Series, No 522. Chapter 35 • Plant Protein, Animal Protein, and Protein Quality 639. 1973
22. FAO/WHO/UNU: Protein and Amino Acid Requirements in Human Nutrition: Report of a Joint FAO/WHO/UNU Expert Consultation (2002: Geneva, Switzerland). World Health Organization, WHO. Technical Report Series, No 935. 2007
23. Nutrición Básica Humana, Ed., J. M. Soriano del Castillo, Materials No. 91, Universitat de València, València, 2006.
24. Goplan C.: Nutritive Value of Indian Food. National Institute of Nutrition. diciembre 2001.

25. Stein HH, Se`ve B, Fuller MF, et al. (2007) Invited review: Amino acid bioavailability and digestibility in pig feed ingredients: Terminology and application. *J Anim Sci* 85, 172–180.
26. Hernández Rodríguez y Sastre Gallego: *Tratado de Nutrición*. 1ª Edición. Editorial Díaz de Santos, Madrid, España. 1999
27. Levesque CL, Moehn S, Pencharz PB, et al. : Review of advances in metabolic bioavailability of amino acids. *Livestock Sci* 133, 4–9. 2010
28. Sarwar Gilani, G., Wu Xiao, C., Cockell, K.A., 2012. Impact of antinutritional factors in food proteins on the digestibility of protein and the bioavailability of amino acids and on protein quality. *Br. J. Nutr.* 108 (Suppl. 2), S315–S332
29. Murray R., Bender D., Botham K., Kennelly P., Rodwell V., Weil P.: *Harper Bioquímica Ilustrada*. 29ª Edición. 2013. Editorial McGraw Hill, Mexico
30. Gaw Allan, Murphy M., Srivastava R., Cowan R.: *Bioquímica Clínica Texto y Atlas en Color*. 5ª Edición. Editorial Elsevier, Barcelona, España. 2013
31. Gil Hernández Ángel (Edit.): *Tratado de Nutrición. Tomo II Composición y Calidad Nutritiva de los Alimentos*. 2ª Edición. Editorial Médica Panamericana, México. 2010
32. NTP 209.262:2001 Alimentos cocidos recontitucion instantanea .Papilla. Enriquecido lacteo. Determinacion de proteinas. Metodo Kjeldahl.
33. Romero N.:*Metodos de Analisis para la determinacion de Nitrogeno y constituyentes nitrogenados hen alimentos*.Mexico.
34. INATEC (Instituto Nacional Tecnológico). (2016). *Manual del protagonista. Nutrición Animal*. Dirección General de Formación Profesional. Nicaragua.
35. Miller DS, Bender AE. “The determination of the Net utilization of proteins by shortened me thod” *Brit. J.Nutr.*1955:(9):p. 382-388
36. García, D.E. *et al*: Evaluación química de especies no leguminosas con potencial forrajero en el estado Trujillo, Venezuela. *Zootecnia Tropical*. 24 (4):401. 2006

37. Garavito, U: *Moringa oleifera*, alimento ecológico para ganado vacuno, porcino, equino, aves y peces, para alimentación humana, también para producción de etanol y biodiesel. 2008
38. Dillard CJ, German JB. 2000. Phytochemicals: nutraceuticals and human health: A review. *J Sci Food Agric* 80: 1744–1756.
39. Martín, C.; López, Y.; Plasencia, Y. & Hernández, E. Characterisation of agricultural and agro-industrial residues as raw materials for ethanol production. *Chem. Biochem. Eng. Q.* 20:443. 2006.
40. Liñan, F. *Moringa oleifera* el árbol de la nutrición. Ciencia y salud. 2010.
41. Moyo B, Masika PJ, Hugo A, Muchenje V (2011) Nutritional characterization of *Moringa* (*Moringa oleifera* Lam.) leaves. *African Journal of Biotechnology*
42. Matamoros Aguirre, O. (2012). Evaluación productiva y económica de dos raciones alimenticias, una comercial y otra experimental en el engorde de cerdos mejorados, en el sector Rocafuerte, cantón Santo Domingo, provincia de los Tsachilas.
43. INATEC (Instituto Nacional Tecnológico). (2016). Manual del protagonista. Nutrición Animal. Dirección General de Formación Profesional. Nicaragua.
44. Soto O., Patricio, Jahn B., Ernesto, & Arredondo S., Susana. (2004). Mejoramiento del porcentaje de proteína en maíz para ensilaje con el aumento y parcialización de la fertilización nitrogenada. .
45. Codex Alimentarius (1985) Guidelines on Nutrition labelling CAC/GL 2-1985
46. Boye, J., Wijesinha-Bettoni, R., Burlingame: Protein quality evaluation twenty years after the introduction of the protein digestibility corrected amino acid score method. *Br. J. Nutr.* 108 (Suppl. 2), S183–S211. 2012
47. Sherman, H.C., 1920. The protein requirement of maintenance in man. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 6, 38–40
48. Gilani GS & Sepehr E: Protein digestibility and quality in products containing antinutritional factors are adversely affected by old age in rats. *J Nutr* 133, 220–225. 2003

49. Sarwar G (1997) The protein digestibility-corrected amino acid score method overestimates quality of proteins containing antinutritional factors and of poorly digestible proteins supplemented with limiting amino acids in rats.
50. Sarwar G (1997) The protein digestibility-corrected amino acid score method overestimates quality of proteins containing antinutritional factors and of poorly digestible proteins supplemented with limiting amino acids in rats. *J Nutr* 127, 758–764
51. Chapman, Raul Castillo, and , J. A. Campbell: Evaluation of protein in foods: 1. a method for the determination of protein efficiency ratios *canadian journal of biochemistry and Physiology*. 37(5): 679-686. 1959
52. Satterlee DL, Marshall HF & Tennyson JM (1979) Measuring protein quality. *J Am Oil Chem Soc* 56, 103–109
53. WHO/FAO/UNU (2007) Protein and amino acid requirements in human nutrition: report of a joint WHO/FAO/ UNU expert consultation. WHO Technical Report m, Series 935. Geneva. FAO/WHO/UNU, 276.
54. Hsu HW, Vavak DL, Satterlee LD, et al: A multienzyme technique for estimating protein digestibility. *J Food Sci* 42, 1269–1273. 1977
55. Pedersen B & Eggum BO (1983) Prediction of protein digestibility by an in vitro enzymatic pH-stat procedure. *Zt Tierphysiol Tierernahr Furtermitt* 4, 265–277.
56. Carias D, Cioccia AM & Hevia P: Agreement between animal and vegetable protein digestibility measured in vivo and in vitro and its effect on the chemical bscore. *Arch Latinoam Nutr* 45, 111–116. 1995
57. FAO. Norma para los productos a base de caseína alimentaria CODEX STAN 290-1995. Codex Alimentarius normas internacionales de los alimentos. 1995.
58. Friedman, M., Brandon, D.L: Nutritional and health benefits of soy proteins. *J. Agric. Food Chem.* 49, 1069–1086. 2001
59. Mitchell, H.H., 1923. The place of proteins in the diet in the light of the newer knowledge of nutrition. *Am. J. Public Health* (NY).

60. Mariotti, F., 2016. Protein intake throughout life and current dietary recommendations. In: Dardevet, D. (Ed.), *The Molecular Nutrition of Amino Acids and Proteins*. Elsevier.
61. Mariotti, F., Pueyo, M.E., Tome, D., Berot, S., Benamouzig, R., Mahe, S., 2001. The influence of the albumin fraction on the bioavailability and postprandial utilization of pea protein given selectively to humans. *J. Nutr.* 131, 1706–1713.
62. Gaudichon, C., Bos, C., Morens, C., Petzke, K.J., Mariotti, F., Everwand, J., Benamouzig, R., Dare, S., Tome, D., Metges, C.C: Ileal losses of nitrogen and amino acids in humans and their importance to the assessment of amino acid requirements. *Gastroenterology* 123, 50–59. 2001
63. Young, V.R., Puig, M., Queiroz, E., Scrimshaw, N.S., Rand, W.M., 1984a. Evaluation of the protein quality of an isolated soy protein in young men: relative nitrogen requirements and effect of methionine supplementation. *Am. J. Clin. Nutr.* 39, 16–24.
64. Young, V.R., Wayler, A., Garza, C., Steinke, F.H., Murray, E., Rand, W.M., Scrimshaw, N.S., 1984b. A long-term metabolic balance study in young men to assess the nutritional quality of an isolated soy protein and beef proteins. *Am. J. Clin. Nutr.* 39, 8–15.
65. Young, V.R., Fajardo, L., Murray, E., Rand, W.M., Scrimshaw, N.S., 1975. Protein requirements of man: comparative nitrogen balance response within the submaintenance-to-maintenance range of intakes of wheat and beef proteins. *J. Nutr.* 105, 534–542



ANEXOS

ANEXO 1: PLANILLAS DE DATOS

CANTIDAD EN GRAMOS DE ALIMENTO DIARIO SOBRENTE

Grupo	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D8	D9	D10	D11	D12	D13	D14	D15	D16	D17	D18	D19	D20	D21
GRCPM	2.5	3.1	2.7	2.6	3.5	2.4	3.4	4.4	2.5	2.2	2.5	2.5	2.5	2.8	4.1	4.5	2.7	2.8	4.1	3.7	4.3
GRCPM	4	5.3	5.4	2.9	4	2.8	2.6	2.2	4	3.2	3	3.5	4.1	4.5	3	3.7	3.3	4.9	2.7	4	2.8
GRCPM	3.1	3.5	3.5	3.7	2.5	4.3	3.7	3.8	2.6	2.1	2.6	2.7	3.1	3.1	4.5	2.3	4.7	4	4.9	3.5	2.4
GRCPM	2.2	4.2	5.5	3.2	2.9	2.9	4.4	2.4	4.6	2.7	4.5	2.7	3.6	3.3	3	4	2.4	4.2	3.8	4.9	2.4
GRCPM	2.8	5.3	2.3	3.2	2.9	4.3	3.2	4.4	4.6	2.7	3.5	3.4	4.3	3.2	5.2	2.9	4.8	4.8	2.1	4.1	4.7
GRCPC	1	0	0	1	2	1.2	1	1.1	1.3	1	1	1.2	0	2.1	0	1.5	0	1.3	1.6	1.1	0
GRCPC	2	2.3	1.2	1.6	0.5	0	1.7	2.7	1.3	0	1.3	1.7	2	0	1.5	1	1.4	1.8	0	1.1	1.4
GRCPC	1	1.8	2.1	1.1	2	1.7	1.8	0	0.3	1.9	1.1	1.5	1.8	1.1	1.4	1.3	0.5	1.2	1	0	1.1
GRCPC	1.2	2	0	1.5	0.3	1.5	1.3	1.7	1.1	1.8	0	1.1	1.5	1	1.3	1.7	1.1	1.3	1.8	2.1	0.2
GRCPC	1.1	0	1.8	1.5	1.1	1.1	1	2.3	0	1.2	1.5	1.1	1.3	1.2	1	1	1.5	1.2	1.6	0	2
GRCPMC	1.6	0.8	1.6	1.0	1.5	1.6	1.0	2.3	0.1	0.7	2.2	0.1	0.3	0.9	2.3	1.6	0.3	0.5	1.3	0.2	0.3
GRCPMC	0.2	0.2	1.7	0.4	1.7	1.2	0.8	1.2	0.4	0.6	2.1	1.7	1.1	0.1	0.4	1.7	1.8	1.2	0.7	0.4	1.6
GRCPMC	0.2	0.3	1.0	0.8	1.9	1.4	1.1	2.2	1.1	0.7	1.0	0.6	1.8	0.7	0.3	1.3	1.5	0.9	0.2	1.8	0.4
GRCPMC	1.5	0.3	1.1	0.7	2	1.2	0.9	1.3	0.6	2	0.7	0.5	2	0.8	2	0.4	1.1	1.2	1.8	0.4	1
GRCPMC	2.2	1.4	1.7	0.2	2.3	0.4	2.3	1.4	0.3	1.8	1.1	0.4	0.7	2.1	0.7	2	1.6	1.6	0.9	1.2	0.9
GRAB	1.4	2.2	2.5	2	1.4	1.4	2	1.5	2.3	1.6	1.4	1.5	1.4	1.1	2.5	1	2	2.4	2.5	1.3	1.8
GRAB	2.4	1.4	1.4	1	1.8	2.2	2.2	0.9	1.1	1.6	2.5	1.9	0.9	1.7	1.6	1.2	1.1	1.4	2.2	1.9	2.4
GRAB	1.1	1.6	1.9	1.5	1	1.5	2.3	1	0.8	2.5	2.2	1.2	2.2	1	2.5	1.6	0.9	1.5	1.2	2.2	1.3
GRAB	1.7	2.2	1.7	1.7	1.2	1.3	2.2	1.1	2.1	1.4	1.5	1.7	1	1.3	2.2	1	1.9	1.2	1.3	2.1	1.6
GRAB	1	1.8	1.6	1.1	2.1	1.7	2.3	0.8	0.8	1.2	2.2	1.5	2.1	1.1	2.3	2.2	2.3	1.3	1.1	2.4	1.7

CANTIDAD DE HECES DIARIAS EN GRAMOS

Grupo	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D8	D9	D10	D11	D12	D13	D14	D15	D16	D17	D18	D19	D20	D21
GRCPM	1.90	1.90	1.80	2.50	2.50	2.30	2.40	2.10	1.80	2.00	2.10	1.90	2.20	2.00	2.00	1.80	2.10	1.90	2.00	2.00	2.30
GRCPM	1.80	2.20	2.20	2.20	2.10	1.80	2.50	2.30	2.40	1.80	2.20	2.10	2.00	1.90	2.20	2.00	2.40	2.30	2.20	2.30	2.30
GRCPM	2.00	2.30	1.80	2.20	2.40	2.20	2.20	2.20	2.20	2.00	2.40	2.10	2.30	1.80	2.40	2.20	1.90	2.40	2.40	2.10	2.40
GRCPM	2.30	2.00	2.20	2.00	2.20	2.10	2.10	2.00	1.80	2.50	2.30	2.30	2.10	2.30	2.20	1.90	2.30	2.40	1.90	2.50	2.10
GRCPM	2.30	2.10	2.30	2.10	2.30	2.10	1.90	2.30	1.80	2.20	2.00	2.20	2.10	2.00	2.30	2.00	2.30	2.30	2.30	2.10	2.20
GRCPC	1.10	1.40	0.90	1.10	1.00	0.80	0.70	0.40	1.00	0.90	1.50	1.40	0.50	0.90	0.80	1.20	0.90	1.40	1.20	1.30	0.70
GRCPC	0.50	0.50	0.50	1.20	0.70	0.40	0.40	1.00	1.10	0.90	0.80	0.80	0.40	1.50	0.40	0.80	0.60	1.10	0.70	0.50	0.50
GRCPC	1.40	1.20	0.60	0.40	1.20	0.70	0.80	0.60	0.80	0.80	1.20	1.10	1.20	0.60	1.30	0.70	1.20	0.60	1.20	1.00	1.30
GRCPC	1.10	1.30	0.80	1.10	1.40	0.70	0.90	0.70	0.50	1.00	0.40	0.80	0.90	1.10	0.90	0.80	0.80	0.60	1.00	1.10	1.00
GRCPC	1.20	0.80	0.70	0.60	0.60	0.40	0.50	1.30	1.00	1.40	0.90	1.30	1.30	0.60	0.80	1.40	0.40	1.00	1.10	0.50	0.70
GRCPMC	0.90	1.40	1.20	0.50	0.80	1.50	0.60	0.80	1.40	1.00	0.40	0.60	1.10	1.20	0.80	0.60	1.40	0.50	1.20	0.60	0.40
GRCPMC	0.50	1.10	1.50	1.30	1.40	0.50	1.20	1.00	0.80	0.60	1.10	1.10	1.50	0.40	1.30	0.80	1.30	1.30	1.20	0.50	1.10
GRCPMC	1.10	1.20	0.90	1.30	0.90	0.60	0.40	0.60	1.00	0.80	1.10	1.40	0.70	1.10	0.40	1.50	0.90	1.30	0.60	1.30	0.70
GRCPMC	1.10	0.80	1.10	1.10	1.40	1.50	0.50	1.00	1.20	0.50	0.90	1.20	1.10	1.30	1.40	1.20	1.10	1.30	1.40	1.10	1.30
GRCPMC	1.10	0.70	1.00	0.50	1.20	1.00	0.90	1.20	0.40	1.00	0.60	0.90	0.60	1.10	0.90	0.90	1.50	0.40	1.50	0.60	0.90
GRAB	1.10	0.80	1.40	1.40	0.90	0.60	1.30	1.30	0.90	0.90	1.40	0.80	0.60	0.60	0.90	0.80	1.00	1.00	1.40	1.40	1.30
GRAB	1.20	1.10	1.10	1.00	0.80	1.50	1.40	1.00	0.60	0.80	1.50	0.80	1.00	1.00	0.70	1.30	1.00	0.90	0.80	1.50	1.10
GRAB	0.80	1.00	1.20	1.10	1.20	1.40	1.30	1.10	1.20	0.70	1.40	0.70	1.10	1.50	1.00	0.80	1.20	0.70	0.70	1.40	1.20
GRAB	0.70	1.40	1.10	1.40	1.20	1.30	0.70	0.80	1.20	0.60	0.90	1.00	1.10	1.50	1.20	1.10	1.10	1.40	0.90	0.90	1.40
GRAB	0.80	1.40	1.40	0.60	0.70	1.30	1.00	0.60	1.50	1.30	1.50	0.60	0.90	1.40	1.40	1.20	0.80	1.10	0.80	1.10	0.70