

CARACTERIZACION NUTRICIONAL DEL GRANO DE CAUPI *Vigna unguiculata L.* EN RATAS

PAOLA ANDREA AGUIRRE F.

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA
ESCUELA DE POSGRADOS
SEDE PALMIRA**

2009

CARACTERIZACION NUTRICIONAL DEL GRANO DE CAUPI *Vigna unguiculata L.* EN RATAS

PAOLA ANDREA AGUIRRE F.

**Trabajo de grado para optar al título de Magister en CIENCIAS AGRARIAS
Área PRODUCCIÓN ANIMAL TROPICAL**

DIRIGIDO POR:

CARLOS ALEXANDER MOTOYA P. Zoot. MSc. PhD.

CODIRECTORA

LUZ STELLA MUÑOZ. Zoot. PhD.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

ESCUELA DE POSGRADOS

SEDE PALMIRA

2009

Dedicada a

Doy gracias a Dios por permitirme alcanzar un sueño
y una meta más a nivel profesional y personal.

A mis padres y hermanas por su constante apoyo y
ayuda a lo largo de este camino y los últimos años.

AGRADECIMIENTOS

Quiero dar las gracias a todas aquellas personas que han colaborado en la realización de esta tesis de maestría y en especial:

A mi director de tesis Carlos Alexander Montoya por su gran dedicación, orientación, apoyo, paciencia y por creer en mí. Gracias Carlos, por tu ánimo constante.

A mi codirectora Luz Stella Muñoz por sus constantes orientaciones, consejos, por su apoyo y paciencia. Gracias profe.

A Fernando Estrada por su gran colaboración en el laboratorio y a Julieta Torres mi compañera y amiga de maestría por su apoyo y colaboración durante las largas horas de trabajo en el laboratorio.

A los cuatro estudiantes de Zootecnia Alexander Gómez, Dalila Pérez, Alejandro Rodríguez y Jose Morales por su colaboración y apoyo en cada fase del trabajo.

A mis padres y hermanas por su apoyo, esfuerzo y por creer en mí.

A mis amigas y amigos Analuz, Indira, Adriana, Mónica, Gloria, Jorge, Pedro, Miguel y demás que estuvieron apoyándome y animándome en todo este proceso. Gracias por soportarme tanto y dibujar sonrisas en mi rostro.

A la Universidad Nacional de Colombia, sede Palmira por su formación académica tanto en pregrado como posgrado.

Al CIAT Centro Internacional de Agricultura Tropical por su apoyo en este trabajo.

TABLA DE CONTENIDO

INTRODUCCION	1
1.REVISION DE LITERATURA.....	3
1.1 LEGUMINOSAS.....	3
1.1.1 Evaluación de especies con potencial para alimentación animal	3
1.1.2 Familia de las leguminosas	4
1.1.3 Leguminosas de grano	4
1.1.4 Producción de leguminosas en Colombia	5
1.1.4.1 Soya (<i>Glicine max</i>).....	6
1.1.4.2 Frijol caupí (<i>Vigna unguiculata</i>).....	6
1.1.4.3 Guandul (<i>Cajanus cajan</i>)	7
1.1.4.4 Arveja arbustiva (<i>Pysum sativum</i>)	7
1.2 CAUPI (<i>Vigna unguiculata</i>)	8
1.2.1 Origen	8
1.2.2 Producción mundial y rendimiento productivo	9
1.2.3 Características agronómicas	9
1.2.4 Valor nutritivo del Caupí	10
1.2.5 Fracciones proteicas en las leguminosas	14
1.2.5.1 Globulinas	15
1.2.5.2 Albuminas	15
1.2.5.3 Glutelinas y Prolaminas	16
1.3 FACTORES ANTINUTRICIONALES	16
1.3.1 Taninos	17
1.3.2 Lectinas	17
1.3.3 Inhibidores de proteasas	18
1.3.4 Proteínas antigénicas	19
1.3.5 Fibras	19
1.3.6 Vicina y convicina	19
1.4 TRATAMIENTOS TÉRMICOS	20
1.5 DIGESTIBILIDAD DE PROTEÍNAS	22
1.5.1 Digestibilidad <i>in vivo</i> de las leguminosas	23

1.5.1.1 Técnicas para determinar digestibilidad a nivel ileal	23
1.5.1.2 Digestibilidad aparente y verdadera	24
1.5.2 Digestibilidad <i>in vitro</i>	25
1.6 ENSAYOS BIOLÓGICOS.....	27
1.6.1 Pruebas de crecimiento	27
1.6.1.1 Peso corporal	27
1.6.1.2 Crecimiento	27
1.6.1.3 Conversión alimenticia	27
1.6.1.4 Consumo de alimento	28
1.6.1.5 Relación eficiencia proteica (PER)	28
1.6.2 Calidad de las proteínas	28
1.6.2.1 Valor biológico (VB)	29
1.6.1.2 utilización neta de la proteína (NPU)	29
1.7 USO DE LEGUMINOSAS EN LA ALIMENTACION DE MONOGASTRICOS.....	30
2. OBJETIVOS.....	33
2.1 OBJETIVO GENERAL	33
2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS	33
3. METODOLOGÍA	34
3.1 LOCALIZACION.....	34
3.2 MATERIALES Y EQUIPOS.....	34
3.2.1 Equipos	34
3.2.2 Animales	34
3.2.3 Origen de los granos de caupí	35
3.3 FASE I. Niveles de caupí crudo en las dietas.....	35
3.3.1 Animales	35
3.3.2 Dietas experimentales	35
3.4 FASE II. Tratamientos térmicos y niveles de caupí en las dietas.....	36
3.4.1 Animales	36

3.4.2 Preparación del caupí	36
3.4.3 Dietas experimentales	36
3.4.4 Periodo experimental (Fase I y II)	37
3.4.5 Sacrificio de animales y recolección de contenido intestinal	38
3.4.6 Análisis de laboratorio	38
3.4.7 Cálculos específicos (Fase I y II)	39
3.4.8 Diseño experimental (Fase I)	39
3.4.9 Diseño experimental (Fase II)	40
3.5 Cinética de DIGESTIBILIDAD <i>IN VITRO</i> de las proteínas.....	40
3.5.1 Proteasas	41
3.5.2 Protocolo de hidrólisis	41
3.5.3 Toma de muestras y lectura	41
3.5.4 Cálculos específicos	41
3.5.5 Diseño experimental	42
3.6 FASE III. Prueba de crecimiento y retención proteica	42
3.6.1 Animales	42
3.6.2 Dietas experimentales	42
3.6.3 Periodo experimental	43
3.6.3.1 Prueba de crecimiento	43
3.6.3.2 Retención proteica	43
3.6.3.3 Sacrificio de animales y recolección de contenido ileal	44
3.6.3.4 Cálculos específicos	44
3.6.3.5 Diseño experimental	45
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	46
FASE I. Niveles de caupí crudo en las dietas	
4.1 Digestibilidad fecal e ileal.....	46
4.1.1 Digestibilidad de la materia seca (MS), la materia orgánica (MO) y la energía	46
4.1.2 Digestibilidad aparente y verdadera del nitrógeno (N).....	46
4.1.3 Cinética de hidrólisis <i>in vitro</i> de la proteína de las dietas experimentales	49
4.1.4 Efecto del nivel de inclusión del caupí sobre el TGI de las ratas	51
FASE II. Tratamiento térmico y niveles de caupí en las dietas	

4.2 Digestibilidad fecal e ileal	53
4.2.1 Digestibilidad de la materia seca (MS), la materia orgánica (MO) y energía..	53
4.2.2 Digestibilidad aparente y verdadera del nitrógeno (N)	54
4.2.3 Cinética de hidrólisis <i>in vitro</i> de la proteína de las dietas experimentales	58
4.2.4 Efecto del nivel de inclusión y tratamiento térmico del caupí sobre el TGI de las ratas.....	61
FASE III. Prueba de crecimiento y retención proteica	
4.3 Prueba de crecimiento	64
4.3.1 Efecto de los niveles de inclusión y tratamiento térmico de la proteína del caupí sobre algunos Parámetros productivos.....	64
4.3.2 Relación eficiencia proteica (PER) y relación proteína neta (NPR).....	69
4.4 Prueba de retención proteica	69
4.4.1 Balance de Nitrógeno (NB).....	69
4.4.2 Valor biológico (BV) y utilización de proteína neta (NPU)	70
5. CONCLUSIONES.....	73
6. BIBLIOGRAFIA.....	75

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Relación de la digestibilidad verdadera fecal e ileal del N con niveles crecientes de N del grano de caupí en dietas balanceadas.....49
- Figura 2. Cinética de hidrólisis *in vitro* de la proteína de las dietas experimentales con los diferentes niveles de incorporación de proteína del grano de caupí.....50
- Figura 3. Relación de la digestibilidad verdadera fecal e ileal del N con diferentes niveles y tratamientos térmicos de la proteína del grano de caupí.....58
- Figura 4. Cinética de hidrólisis *in vitro* de la proteína de las dietas experimentales con diferentes tratamientos térmicos y niveles de inclusión de la proteína del grano de caupí.....60
- Figura 5. Curva de crecimiento en ratas alimentadas con diferentes niveles de sustitución y tratamientos térmicos de la proteína del grano de caupí dietas experimentales.....64

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Familias de las leguminosas.....	4
Tabla 2. Leguminosas forrajeras y de grano destinadas a la alimentación animal.....	5
Tabla 3. Composición proximal de algunas leguminosas de grano.....	11
Tabla 4. Composición nutricional de granos de <i>Vigna</i>	11
Tabla 5. Composición de aminoácidos de 5 cultivares de <i>Vigna unguiculata</i> del Brasil comparada con el huevo y de la proteína total y sus fracciones.....	13
Tabla 6. Composición de minerales de diferentes variedades de frijol.....	14
Tabla 7. Factores antinutricionales (FAN) en algunas leguminosas de grano.....	17
Tabla 8. Factores antinutricionales (FAN) y sus efectos en animales.....	20
Tabla 9. Efecto de tratamientos térmicos sobre la reducción de la actividad inhibidora de la tripsina y las lectinas.....	22
Tabla 10. Digestibilidades <i>in vivo</i> de algunas leguminosas de grano.....	24
Tabla 11. Concentraciones de aminoácidos totales y sus digestibilidades para tres cultivares comerciales de caupí (<i>Vigna unguiculata</i>).....	25
Tabla 12. Digestibilidad <i>In vitro</i> (DIV) de las fracciones proteínicas de <i>P. lunatus</i>	26
Tabla 13. Digestibilidades <i>in vitro</i> de algunas leguminosas de grano.....	26
Tabla 14. Calidad nutricional de algunas leguminosas de grano.....	30

Tabla 15. Composición química y digestibilidad de frijol bayo <i>Vigna unguiculata</i> (FB), frijol alado <i>Psophocarpus tetragonolobus</i> (FA) y quinchoncho <i>Cajanus cajan</i> (Q).....	31
Tabla 16. Efecto de dos niveles de <i>Vigna unguiculata</i> 10 y 20% con y sin tratamiento térmico.....	32
Tabla 17. Composición y contenido nutricional de las dietas experimentales (Fase I) con diferentes niveles de inclusión de caupí crudo en ratas.....	36
Tabla 18. Composición y contenido nutricional de las dietas experimentales (Fase II) con diferentes tratamientos térmicos y niveles de inclusión de caupí en ratas.....	37
Tabla 19. Composición y contenido nutricional de las dietas experimentales (Fase III) para prueba de crecimiento y retención proteica con caupí crudo y con tratamientos térmicos en ratas.....	43
Tabla 20. Consumo y valores de digestibilidad fecal e ileal en ratas alimentadas con diferentes niveles de inclusión de proteína del grano de caupí.....	48
Tabla 21. Comparación de la digestibilidad <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> de la proteína de las dietas experimentales con los diferentes niveles de inclusión del grano de caupí.....	51
Tabla 22. Efecto de los diferentes niveles de inclusión de la proteína del grano de caupí sobre el tracto gastrointestinal de las ratas.....	53
Tabla 23. Valores de digestibilidad fecal e ileal en ratas alimentadas con diferentes niveles de inclusión y tipos de tratamientos térmicos de proteína del grano de caupí....	57
Tabla 24. Comparación de digestibilidad <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> de la proteína de las dietas experimentales con diferentes tratamientos térmicos y niveles de sustitución del grano de caupí.....	61

Tabla 25. Efecto sobre el tracto gastrointestinal de ratas alimentadas con diferentes niveles de inclusión y tipos de tratamientos térmicos de proteína del grano de caupí...63

Tabla 26. Crecimiento, ganancia de peso, consumo de alimento e índice de conversión en ratas alimentadas con diferentes niveles de inclusión y tratamientos térmicos de la proteína del grano de caupí en ratas en 28 días.....68

Tabla 27. Consumo y variables de retención proteica en ratas alimentadas con diferentes niveles de inclusión y tratamientos térmicos de la proteína del grano de caupí en ratas72

ABREVIATURAS MÁS UTILIZADAS

1. La revisión de literatura

PC:	Proteína cruda
EE:	Extracto etéreo
FB:	Fibra bruta
FDN:	Fibra detergente neutra
GLB:	Globulinas
ALB:	Albuminas
GLT:	Glutelinas
PRL:	Prolaminas
FAN:	Factores antinutricionales
AA:	Aminoácidos
DIV:	Digestibilidad <i>in vitro</i>

2. En el resto de los capítulos

DSP:	Dieta sin proteína
EB:	Energía bruta
MS:	Materia seca
MO:	Materia orgánica
N:	Nitrógeno
ED:	Energía digestible
DVFN:	Digestibilidad verdadera fecal del nitrógeno
DVIN:	Digestibilidad verdadera ileal del nitrógeno
TGI:	Tracto gastrointestinal
ID:	Intestino delgado
PER:	Relación eficiencia proteica
NPR:	Relación proteína neta
NB:	Balance de nitrógeno
BV:	Valor biológico
NPU:	Utilización neta de proteína

RESUMEN

En el presente trabajo se caracterizó nutricionalmente el grano de caupí (*Vigna unguiculata*) mediante ensayos de digestibilidad *in vivo*, pruebas de crecimiento y retención proteica en ratas. En la primera prueba, la caseína única fuente de proteína de la dieta control, fue reemplazada por diferentes niveles de la proteína del grano de caupí (33, 67 y 100%). Las dietas fueron suplementadas con Cr₂O₃ para la determinación de la digestibilidad ileal. Un total de 24 ratas (100 g de peso corporal; 6/tratamiento) fueron puestas en jaulas metabólicas, alimentadas durante 10 d y sus heces recolectadas durante los últimos 5 d para la determinación de la digestibilidad fecal. Al final del periodo de recolección las ratas fueron sacrificadas. El contenido ileal fue recuperado y la anatomía de los diferentes segmentos del tracto gastrointestinal fue medida. Una dieta sin proteína fue usada para determinar las pérdidas endógenas basales y la consecuente digestibilidad verdadera del N. La digestibilidad ileal y fecal de la proteína disminuyó linealmente a medida que el nivel del caupí aumentó en la dieta ($P < 0.001$). La digestibilidad de la proteína del caupí crudo a nivel ileal fue del 44%. Se observaron efectos sobre el TGI ($P < 0.001$), un aumento en el peso y longitud de los órganos (intestino delgado y ciego) con niveles crecientes de caupí crudo. En el segundo ensayo de digestibilidad se evaluó el efecto del tratamiento térmico (crudo, cocción y autoclave, ambas por 5 y 20 min) y el nivel inclusión (50 y 100%) del grano de caupí en reemplazo de la proteína de la torta de soya. El tratamiento térmico mejoró ($P < 0.001$) la digestibilidad ileal verdadera del N, del 88% con la dieta que contenía caupí cocido por 5 min y nivel de inclusión del 50% respecto a 71% para dietas caupí crudo 50%. Se observaron efectos de las dietas con nivel del 50% sobre el tracto gastrointestinal (TGI) ($P < 0.001$), en aumento de peso y longitud para de los órganos evaluados (estómago, intestino delgado, ciego y colon). En la tercera fase, se seleccionaron las dietas con las mejores digestibilidades a nivel ileal del ensayo anterior, para realizar una prueba de crecimiento y retención proteica en dietas balanceadas en proteína ileal digestible (10%) y suplementadas con metionina. Un total de 36 ratas (50 g peso corporal; 6/tratamiento) fueron alimentadas por 28 d. Durante los últimos 5 d, las heces y la orina total fueron recolectadas para la prueba de retención proteica. No se presentaron diferencias significativas para las ganancias de peso e índices de conversión entre las dietas y para

las variables de retención proteica ($P > 0.05$). No obstante, el mejor balance de nitrógeno se observó en las ratas que consumieron caupí crudo 50%. En conclusión, una mejor utilización de la proteína del caupí fue observada después de la cocción por 5 min. Este caupí puede llegar a sustituir hasta el 50% de la proteína de la torta de soya sin detrimento en el desempeño productivo de los animales.

SUMMARY

In the present study the nutritional characterization of cowpea (*Vigna unguiculata*) was done using digestibility, growth and protein retention in rats. In the first trial, casein the only source of protein in the control diet was replaced by different levels of raw cowpea protein (33, 67 and 100%). The diets were supplemented with Cr₂O₃ as indigestible marker to ileal digestibility determination. A total of 24 rats (100 g bodyweight; 6/treatment) were kept in metabolic cages, fed during 10 d and their faeces collected during the last 5 d for faecal digestibility determination. At the end of the collection the rats were euthanized. The ileal content was collected and the anatomy of the different segments of the gastrointestinal tract was measured. A free-protein diet was used to determine the basal endogenous losses of N. The ileal and faecal digestibility of protein decreased as the level of raw cowpea increased in the diet ($P < 0.001$). The ileal digestibility of raw cowpea was 44%. Effects on the TGI were observed ($P < 0.001$), an increase in the weight and long of the segments (small intestine and cecum) with increasing levels of cowpea was observed. In the second trial, the thermal treatment (raw, boiling and autoclave, both for 5 and 20 min) and the inclusion level (50 and 100%) of the cowpea by the protein of the control diet (soybean meal) was tested. The thermal treatment improved the standardised N digestibility in both inclusion levels ($P < 0.001$). The 50% of protein cowpea inclusion were affected the weight and the long of the different segments of the TGI ($P < 0.001$). In the third trial, the best ileal digestibility diets obtained in the second trial were chosen for a growth and retention trial. The diets were balanced by ileal protein digestibility and supplemented by methionine. A total of 36 rats (50 g bodyweight; 6/ treatment) were fed for 28 d. During the last 5 d, the total faeces and urine were collected for the retention trial. No differences were observed for the average daily gain and gain-to-feed ratio and the retention variables ($P > 0.05$). However, the N balance was highest for the rats fed with raw cowpea 50%. In conclusion, the best cowpea utilization was observed after boiling it for 5 min. It could replace up to 50% of the protein of soybean meal without affect the growth performances.

INTRODUCCIÓN

La proteína es uno de los principales factores limitantes en la producción de cerdos en las regiones tropicales. Las principales fuentes de proteína (ej. torta de soya) utilizadas en los países tropicales para la producción animal son producidas en otros países (EE.UU., Brasil, etc.). Por lo tanto, estos ingredientes están sujetos a las fluctuaciones de precios relacionadas con su disponibilidad y a la tasa cambiaria del dólar, lo cual repercute desfavorablemente sobre la reserva de divisas de Colombia. Además, hace que el precio de los alimentos concentrados comerciales se eleven, limitando a los pequeños productores de monogástricos (cerdos y aves) el uso de estos para una adecuada nutrición (Ruiz y Febles, 1987).

El uso de materias primas en la nutrición animal constituye un reto para los nutricionistas, en la búsqueda de soluciones y alternativas para lograr producciones avícolas, porcinas y cunícolas sostenibles y eficientes (Savón, 2005). En zonas tropicales existe gran variedad de recursos para ser utilizados en alimentación. Las leguminosas de grano pueden ser una alternativa para reemplazar las fuentes tradicionales de proteína (Leterme et al., 2005).

Algunas leguminosas de grano como el fríjol bayo *Vigna unguiculata*, el quinchoncho *Cajanus cajan* y el fríjol alado *Psophocarpus tetragonolobus* tienen el potencial para conformar el componente proteico de las raciones para monogástricos, por su alto contenido de proteínas, energía y otros nutrientes (revisión León et al., 1993).

El caupí *Vigna unguiculata* es cultivado ampliamente en el trópico. Tiene relativamente un alto contenido de proteína (25%), energía, minerales etc. Además, sus características agronómicas como crecimiento en suelos ácidos y alcalinos, buena producción de semillas, la podrían convertir en una alternativa de reemplazo de la torta de soya en nuestro país. En Colombia un 28% (UMATA) de los pequeños productores se encuentran ubicados en terrenos de ladera, caracterizados por tierras de baja fertilidad. Estos pequeños productores en general tienen menos de 10 cerdos y una pequeña población de aves para su autoconsumo e ingresos económicos (revisión Granito et al., 2004).

Las proteínas de *Vigna unguiculata* (L.) Walp. están constituidas por las globulinas (51%), albuminas (45%), prolaminas (1%) y glutelinas (3%) (Chi-Wah y Dixon, 1994, citado por Serratos, 2000; Freitas et al., 2004). Al igual que otros granos de leguminosas, el grano del caupí tiene algunos factores antinutricionales que limitan su uso en la alimentación animal. Sin embargo, algunos de ellos pueden ser eliminados o inactivados, en gran parte, por cocción y tratamiento adecuado durante la preparación del alimento (Rangel et al., 2004).

Por consiguiente, el objetivo de esta investigación fue evaluar el valor nutricional del caupí *Vigna unguiculata* mediante ensayos en ratas. Pruebas de digestibilidad, crecimiento y retención proteica fueron realizadas para encontrar el nivel óptimo de inclusión y el tipo de tratamiento térmico sobre el grano de caupí.

1. REVISION DE LITERATURA

1.1 LEGUMINOSAS

Las leguminosas son de uso multipropósito en las regiones tropicales del mundo. Algunas de ellas han sido poco estudiadas pese a la urgente necesidad de proteína para los animales domésticos que utiliza el hombre. Se reconocen cerca de 18000 especies de leguminosas en el mundo en 650 géneros (Gómez et al., 2007). Su importancia radica en la ventaja de haber desarrollado distintos mecanismos biológicos para la captación del nitrógeno atmosférico que circula en los poros del suelo y de otros minerales que limitan el desarrollo de otras plantas en suelos tropicales (normalmente de fertilidad limitada) como el fósforo (Gómez et al., 2007).

1.1.1 Evaluación de especies con potencial para alimentación animal

Algunos puntos importantes a tener en cuenta para considerar una especie potencial para uso en alimentación animal son:

1. Presencia de especies herbáceas dentro de las cuales hay arbustivas y arbóreas consumidas por animales silvestres y domésticos en ecosistemas naturales o agroecosistemas.
2. Identificación de especies utilizadas tradicionalmente por comunidades locales desde tiempos ancestrales para alimentar sus animales (identificando especie y consumo).
3. Introducción de especies estudiadas en otros países tropicales y estudio de plantas locales con afinidad genética (familia, género).
4. Caracterización del material que incluye la determinación de materia seca, composición química y pruebas de digestibilidad.
5. Aspectos agronómicos (propagación, biomasa, enfermedades, etc.).
6. Pruebas biológicas que estudian la conducta de los animales a través del consumo voluntario de follajes arbóreos y granos poco conocidos. Permitiendo identificar la presencia o no de factores antinutricionales (Gómez et al., 2007).

1.1.2 Familia de las leguminosas

Dentro de las leguminosas se encuentran 3 subfamilias: Mimosáceas, Cesalpináceas y Papilionáceas (Tabla 1), con diferencias específicas entre ellas. Encontrando especies que poseen características importantes que las hacen deseables para ser sembradas en determinado tipo de sistemas dependiendo de los objetivos:

- 1- Fuente principal de proteína vegetal concentrada en semillas (alimentación humana y animal).
- 2- Forraje • Producciones estables y altas • Selección de especies con alto valor proteico y bajo contenido de factores antinutricionales para los animales.
- 3- Mejoramiento de las propiedades físicas del suelo, por ejemplo la fijación de nitrógeno por parte de las bacterias del género *Rhizobium*.
- 4- Cultivos de cobertura que protegen contra la erosión, adicionan nitrógeno y material vegetal, con este fin se utilizan los géneros *Desmodium*, *Arachis*, *Canavalia*, *Doliónos* y *Mucuna* (Gómez et al., 2007).

Tabla 1. Familias de las leguminosas.

MIMOSACEAS	CESALPINACEAS	PAPILIONACEAS
*Hojas compuestas	*Hojas compuestas	*Hojas compuestas, muchas veces trifoliadas
*Flores radiadas con frecuencia pequeñas y en capítulos, inflorescencia espiciforme estambres libres muy numerosos y vistosos	*Flores con 5 pétalos libres (corola no amariposada)	*Flores con 5 pétalos libres (corola no amariposada)
<i>GENEROS</i>		
Acacia Albizzia Calliandra (carboneros) Enterolobium (Orejero) Inga (guamos) Prosopis (trapillo, algarrobo) leucaena, Mimosa (Acacia forrajera) Pithecellobium (chiminango)	Bauhinia (casco de buey) Brownea (palo de la cruz) Caesalpinia (ébano)	Phaseolus (frijol) Glicine (soya) Cajanus (guandul) Crotalaria Erythrinas (pízamos, cachimbos) Gliricidia (matarratón)

Fuente: revisión Gómez et al., 2007.

1.1.3 Leguminosas de grano

En países europeos las leguminosas de grano constituyen en la actualidad un grupo de materias primas importante en la alimentación animal, debido principalmente a su alto contenido en proteína. Su interés se ha incrementado especialmente a partir de los años setenta, debido a las consecuencias del embargo americano a la exportación de soya. Esta situación mostró la dependencia de una oferta limitada en algo tan importante como las fuentes de proteína en la alimentación animal. Desde entonces se ha destinado una gran cantidad de esfuerzos y medios económicos al estudio de las leguminosas de grano como fuentes autóctonas alternativas de proteína (Rubio y Brenes, 1995).

El frijol común (*Phaseolus vulgaris*) constituye la leguminosa que ha sido objeto de más estudio en América Latina, por ser una de las fuentes principales de proteína de la población humana (Cárdenas et al., 2000).

El atributo nutricional más importante de las leguminosas es su efecto suplementario sobre las dietas compuestas por cereales, pero dicho efecto está limitado por la deficiencia de aminoácidos azufrados y por factores antinutricionales, de los cuales se hablara más adelante (Cárdenas et al., 2000).

1.1.4 Producción de leguminosas en Colombia

La principal fortaleza que tiene el trópico en la producción animal, radica en su amplia, rica y variada oferta de recursos naturales (biodiversidad). Una gran cantidad de leguminosas son usadas para la alimentación de animales (rumiantes y monogástricos) en estos países como una alternativa de reemplazo de materias primas convencionales como la soya. En nuestro país, se destacan leguminosas forrajeras y de grano (Tabla 2).

Tabla 2. Leguminosas forrajeras y de grano destinadas a la alimentación animal.

Nombre común	Nombre científico	Tipo	Especie
Matarratón	<i>Gliricida sepium</i>	Forraje	Rumiantes
Guandul	<i>Cajanus cajan</i>	Forraje y grano	Ambas
Alfalfa	<i>Medicago sativa</i>	Forraje	Ambas
Leucaena	<i>Leucaena leucocephala</i>	Forraje	Rumiantes
Samán	<i>Pithecellobium saman</i>	Forraje y grano	Rumiantes
chachafruto	<i>Erythrina edulis</i>	Forraje y fruto	Ambas
Pízamo	<i>Erythrina fusca</i>	Forraje	Ambas
Algarrobo	<i>Ceratonia siliqua L.</i>	Grano	Rumiantes

Continuación Tabla 2

Cratylia	<i>Cratylia argentea</i>	Forraje	Rumiantes
Canavalia	<i>Canavalia ensiformis</i>	Grano	Ambas
Frijol caupí	<i>Vigna unguiculata</i>	Forraje y grano	Ambas
Carbonero	<i>Acacia polyphylla</i>	Forraje	Rumiantes
Lupinus	<i>Lupinus albus</i>	Grano	Ambas
Vainillo	<i>Planifolia andre</i>	Forraje	Rumiantes
Guasimo	<i>Guásuma ulmifolia</i>	Forraje	Rumiantes

Fuente: Sarria, 2000.

1.1.4.1 Soya (*Glicine max*)

Estadísticamente en Colombia se señalan nueve departamentos productores de soya, sin embargo, esta se concentra en Meta, Valle del Cauca, Cauca y Casanare, los cuales concentran el 98.5% de la producción total. Risaralda, Huila, Quindío, Tolima y Caldas tienen una producción mínima contribuyendo con el 1.5% de la producción. Pero debido a que la producción es irregular y poco competitiva el gobierno tiene que recurrir a importaciones permanentes para satisfacer la demanda de las fábricas productoras de concentrados lo que encarece notablemente el valor final del alimento para animales (Garzón, 2003).

En el caso de la industria Avícola y Porcicola la soya es muy importante dentro de la dieta como fuente principal de proteína. La demanda interna que genera la industria fabricante de concentrados para la alimentación animal, contribuye parcialmente a la recuperación del sector agrícola. Sin embargo, el precio de la soya entre el 2007 y 2008 incremento en un 77% (COAGRO, 2008).

1.1.4.2 Frijol caupí (*Vigna unguiculata*)

Introducido a América por los colonizadores Españoles. El caupí ha sido ampliamente estudiado y cultivado en África, India, EE.UU. Cuba, Venezuela y Brasil. En Centroamérica se usa marginalmente por grupos de agricultores en el sur de Honduras y norte de Nicaragua, pero no se ha hecho mucha investigación ni esfuerzos de diseminación (revisión Oporta y Rivas, 2006).

En la Costa Atlántica Colombiana (Atlántico, Bolívar, Sucre, Magdalena y Córdoba), una de las leguminosas más preferidas es el frijol criollo (*Vigna unguiculata*) en las variedades de semilla roja y blanca, junto con el guandul (*Cajanus cajan*), la

habichuela (*Vigna sesquipedalis*) y la carauta (*Phaseolus lunatus*). La *Vigna unguiculata* es conocida también con los nombres de frijol cuarentano, frijol soya, frijol cabecita negra; en esta zona crece bien y es consumido tradicionalmente para alimentación humana y animal como granos secos y vainas verdes. Mendoza de Jiménez et al., (1989), citado por Díaz y López (1997), afirman que el frijol caupí [*Vigna unguiculata* (L.) Walp] es después del frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.), la leguminosa de mayor importancia destinada al consumo directo de la población en las regiones tropicales y subtropicales. Actualmente, se están realizando estudios sobre la utilización del grano en nuestro país para la alimentación de animales. Estudios agronómicos han mostrado producciones de 5 ton/ ha en 8 semanas (Peters et al., 2003). Variedades de caupí evaluadas por CORPOICA, presentan rendimientos promedios de 900 a 1465 kg/ ha de ICA Calamari, 915 a 1520 kg/ ha de ICA Betanci, 355 a 800 kg/ ha de CAUPICA MII y VIGNICA a periodos vegetativos de 65 días en promedio (Díaz y López, 1997).

Márquez (1991) citado por Oporta y Rivas (2006), menciona que el rendimiento del frijol está en función de varias características anatómicas y morfológicas que tienen que ver con el número de vaina por rama, el número de vainas por planta, número de semillas por vaina y el peso de la semilla.

1.1.4.3 Guandul (*Cajanus cajan*)

En Colombia se cultiva principalmente en la Costa Atlántica, en pequeñas áreas a nivel casero y semicomercial. En el departamento del Cauca se encuentra con frecuencia en la zona rural, con mayor presencia en los municipios de Bolívar, Mercaderes, Patía, El Tambo, Balboa, Buenos Aires, Santander, Morales, Piendamó, Puerto tejada y Cajibío (Vivas y Morales, 2005). No obstante, se tiene poco conocimiento de variedades promisorias (como accesiones de CIAT) así como identificación de las tradicionalmente plantadas en la región de Piendamó. Rendimientos de 5-10 ton/ha/año han sido reportados (Peters et al., 2003).

1.1.4.4 Arveja arbustiva (*Pisum sativum*)

En Colombia, la creciente demanda por alimentos para consumo humano y forraje para animales ha creado la necesidad de evaluar nuevos genotipos promisorios de arveja

arbustiva que presenten alto rendimiento. El cultivo ha sido en nuestro país una actividad propia de áreas de minifundio, cuya producción se ha dedicado al autoconsumo o al mercadeo en fresco. Los principales departamentos productores son Cundinamarca y Boyacá, seguidos en menor importancia por Nariño, Santander, Tolima, Huila y Antioquia. Es muy común encontrarla en asocio con papa o utilizada como rotación con cebolla, maíz, frijol y papa (revisión Forero y Moreno, 2006). En el 2004, la arveja fue la hortaliza con mayor área cosechada Nacional, con 25500 ha y una producción aproximada de 70.000 ton, destinadas en un 95% al consumo en fresco y el resto a la producción de semilla. Para el año 2005 se estimó un rendimiento promedio a nivel nacional de 4.4 ton/ha, ocupando el segundo lugar en orden de importancia después del frijol. También, es una planta que se cultiva como leguminosa verde para forraje y desempeña un valioso papel en la economía del nitrógeno en los suelos (revisión Forero y Moreno, 2006). En otros países esta leguminosa es utilizada en la alimentación para humanos y animales como camarones, peces (ej. tilapia) (McCallum et al., 2000).

1.2 CAUPI (*Vigna unguiculata*)

1.2.1 Origen

Antes de la llegada a Europa de las especies conocidas como judías (*Phaseolus* spp), era frecuente en algunos países, como España y Portugal, el cultivo de otras leguminosas algunas de ellas pertenecientes al género *Vigna*, de origen afroasiático, ligadas a la expansión Árabe, que son evidentes en la agricultura andaluza (De Ron et al., 2004). Una de las leguminosas era la “alubia” en Árabe “lubiya” que en los textos árabes medievales probablemente se refiere a *Vigna unguiculata* (L.). Esta es una especie de cultivo limitado en España y Portugal que se encuentra asociado a *Phaseolus vulgaris*, en poblaciones mixtas, donde recibe nombres como “caupí” (derivado del "cow pea" inglés), judía carilla, judía de vaca, frijol de fraile y “feijão frade”, en Suramérica se encuentra casi siempre asociada con maíz (De Ron et al., 2004).

El uso más intensivo de *Vigna unguiculata*, es en el trópico y subtropical a lo largo de África, Asia, Sur y Centro América, así como en ciertas partes de Europa y Estados Unidos (Granito, 2004). En Occidente, especialmente en Latinoamérica, las

leguminosas son alimentos altamente consumidos y forman parte de los hábitos alimenticios de la población (Granito, 2004).

1.2.2 Producción mundial y rendimiento productivo

El caupí (*Vigna unguiculata* L. Walp.) es sembrado en cerca de 7 millones de hectáreas en las regiones más calientes del mundo (Rachie, 1985, citado por Ehlers, 1997). Cerca de dos tercios de la producción mundial y más de tres cuartos del área de producción se extienden sobre la sabana de Sudán y las zonas del Sahel de África. Grandes cantidades de caupí también se producen en Suramérica (en gran parte del noreste de Brasil), Asia, y las regiones del sudeste y sudoeste de Norteamérica. El caupí es típicamente cultivado en zonas ecuatoriales y subtropicales, a menudo se sustituye por frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) en altitudes por encima de 1300 m, aunque el caupí se cultiva en altitudes de hasta 1600 m en Kenia y en altas elevaciones en Camerún (Ehlers, 1997).

En todo el mundo, se estima que 3.7 millones de toneladas de caupí se produce anualmente en alrededor de 8.7 millones hectáreas. Cerca del 87% del área se encuentra en África, 10% en las Américas y el resto en Europa y Asia. Nigeria es el mayor productor de caupí, alrededor del 45% del total, seguido por Brasil que produce el 17% en 1144 millones de hectáreas anuales (Langyintuo et al., 2003).

Para el año 2007 se estimó un área de cosecha en Nigeria de caupíes secos de aproximadamente 4.4 millones de hectáreas y una producción de 1.1 millones de toneladas, mientras que para Estados Unidos una producción de 7 mil toneladas en un área de 13500 hectáreas aproximadamente y en Perú una producción de 13 mil toneladas en un área de cosecha de 17 mil hectáreas (FAOSTAT, 2009).

1.2.3 Características agronómicas

El Caupí es una leguminosa herbácea anual, erecta, semi-erecta y rastrera, de unos 40 cm de altura, con semillas grandes, flores racimosas de color púrpura azulado o blanco, hojas verdes ovales a cordiformes y planas, legumbres con 10 a 15 semillas por vaina. Semillas de diferentes colores, blancos, rojos, marrón y crema (Monsalve, 2007). Se caracteriza por múltiples usos, tales como abono orgánico, rotación de cultivos para

contribuir con la fertilidad del suelo; pueden crecer puras o asociadas con gramíneas o leguminosas (Díaz et al., 2002).

Crece desde el nivel del mar hasta los 1500 m. Tiene un tiempo de cosecha corto (12 semanas), altos rendimientos en producción de grano (2-5 t/ha/año, Peters et al., 2003) dependiendo de la accesión, fácil manejo en condiciones de trópico, es tolerante a enfermedades (Rodríguez y Figueroa, 1996). Además, tiene una gran adaptación a altas temperaturas y sequía, es tolerante a suelos de baja fertilidad, debido a sus altas tasas de fijación de nitrógeno y su capacidad para soportar tanto suelos ácidos como alcalinos (Ehlers, 1997).

El frijol caupí no es muy exigente en agua, requiere riego ligero cuya frecuencia depende de la temperatura del ambiente, de la capacidad retentiva del suelo y del sistema de regadío. Durante todo el desarrollo se recomienda efectuarle de 3 a 5 riegos, ya que requiere entre 4000 a 5000 m³/ha de agua, concentrándose las mayores exigencias durante la siembra, la floración y el llenado de vainas (Oporta y Rivas, 2006).

1.2.4 Valor nutritivo del Caupí

Los granos de leguminosas se destacan fundamentalmente por su aporte proteico (23 a 28%, Tabla 3; Allende, 2005). No obstante, estos valores son inferiores a la torta de soya (38 a 50%, Allende, 2005). Por su alto contenido de almidón como en el caupí (aproximadamente 50%), estos granos de leguminosas tienen un alto valor energético. El bajo aporte de grasa (1 a 3%, Allende, 2005) está constituido principalmente por ácidos oleico y linoleico (2/3 del total de los ácidos grasos) (Morales, 2006). Son una buena fuente de minerales como el calcio, hierro y fósforo. Su principal aporte en vitaminas son los del grupo B: tiaminas (B1), riboflavina (B12) y niacina (B5) (Allende, 2005). Por lo tanto, las leguminosas de grano presentan gran interés en la alimentación humana y animal a nivel mundial. El caupí surge como cultivo de gran potencial para utilización en alimentación animal en nuestro país, donde no compite con la nutrición humana. Presenta un contenido medio de proteína (alrededor de 26%) y un aporte favorable de aminoácidos a excepción de la metionina (Rodríguez y Figueroa, 1996). En Cuba, un estudio mostro las posibilidades de utilizar *Vigna unguiculata* como fuente de

proteína en alimentación animal con la variedad INIFAT-93, que presenta bajo contenido de factores antinutricionales (Castro et al., 2001).

Tabla 3. Composición proximal de algunas leguminosas de grano.

<i>Leguminosa</i>	Composición nutricional (%) ¹			
	PC	EE	FDN	Ceniza
<i>Canavalía ensiformis</i> ²	24.3	3.4	29.4	3.3
Arveja forrajera ³	22.6	1.3	16.6	3.3
Caupí ⁴	26.1	1.0	23.6	3.2
Soya (vainas y semillas) ⁵	29.1	13.6	29.2	5.3
Fríjol alado ⁴	37.3	16.8	28.7	4.5
Quinchoncho ⁴	19.7	1.5	28.4	3.8

¹ PC, proteína cruda; EE, extracto etéreo; FDN, fibra detergente neutra; Ceniza

² Racz (1997). ³ *Pisum sativum* L, Michelangeli et al. (2004)

⁴ *Vigna unguiculata*, *Psophocarpus tetragonolobus*, *Cajanus cajan*, León et al. (1993).

⁵ *Glicine max*, Tobía y Villalobos (2004)

Se ha demostrado que la composición química y propiedades nutricionales del caupí varían considerablemente según el cultivar (Tabla 4; revisión Sunday, 2005). El contenido de proteína cruda reportado para el caupí varía entre 20 y 34% (Aremu, 1990; revisión Sunday, 2005), donde estas diferencias están atribuidas a las diversas variedades de caupí.

Tabla 4. Composición nutricional de granos de *Vigna*.

<i>Variedades</i>	Composición nutricional (%) ¹							
	PB	FB	EE	Cenizas	P	Ca	K	Mg
V. blanca	26	5.4	2.1	5	0.6	0.5	2.2	0.3
V. negra	25	8.1	1.5	5.3	0.5	0.3	0.9	0.2
V. verde ²	24	5.5	1.7	4.2	0.5	0.3	1.7	0.2
INIFAT 93	27	6.4	2.8	4	0.4	0.3	1.4	0.2
Habana 82	28	7.2	1.8	4.5	0.5	0.3	1.2	0.2
Viñales144A	26	5.5	1.9	4.5	0.4	0.2	1.5	0.4
V. Peruchin negro ³	24	5.7	2.1	4.2	-	-	-	-
<i>Cultivares de Vigna unguiculata del Brasil</i> ⁴								
EPACE 10	24	-	2.3	4.1	-	-	-	-
EPACE 11	20	-	1.2	3.2	-	-	-	-
Pitiuba	21	-	2.0	3.6	-	-	-	-
TVu 1888	21	-	3.6	3.3	-	-	-	-
IPA 206	26	-	2.4	3.7	-	-	-	-

¹ PB, proteína bruta; FB, fibra bruta; EE, extracto etéreo; P, fosforo; Ca, calcio; K, potasio; Mg, magnesio.

² *Vigna radiata* Díaz et al. (2002).

³ Lopez y Bressani (2008).

⁴ Maia et al. (2000).

El valor nutritivo de las proteínas es determinado por el patrón y la cantidad de aminoácidos esenciales presentes (Tabla 5). La presencia de uno o varios de los aminoácidos esenciales en cantidades adecuadas aumenta el valor nutritivo de la proteína (Rangel et al., 2004). Al igual que los otros granos de leguminosas, el grano de caupí es deficiente en aminoácidos azufrados (cisteína y metionina) y triptófano. Sin embargo, presentan un alto contenido en lisina, aminoácido altamente deficiente en los cereales y limitante en la nutrición porcina (Rubio y Brenes, 1995; Muzquiz, 2008).

En un estudio realizado por Maia et al. (2000) a diferentes cultivares de *Vigna unguiculata* (L) del Brasil, hallaron la siguiente composición de aminoácidos presentada en la Tabla 5.

Tabla 5. Composición de aminoácidos de 5 cultivares de *Vigna unguiculata* del Brasil comparada con el huevo y de la proteína total y sus fracciones.

Aminoácidos	Cultivares ¹						Proteína total y sus Fracciones ²			
	FAO	EPACE 11	Pitiuba	TVu 1888	IPA 206	EPACE 10	PCM	CPC	CPI	PV
<i>Esenciales</i>										
Thr	34	39.7	39.3	39.4	39.6	43.3	37.5	37	50	34
Val	35	41.1	40.6	36.9	44	41.6	41.5	44.3	50	54
Ile	28	34.4	34	36.5	45.8	48.1	35.2	27.5	47	50
Leu	66	76	76	77.7	72.7	71.8	73	112	74	88
Lys	58	70.9	70.5	70.3	69.1	66.4	68.4	74.3	68	64
Phe+Tyr	63 ³	112.2	106.4	111.8	105	111.1	35/29	41/31	66/39	77/32
Met+Cys	25 ⁴	23.9	17.8	22	20.3	23.6	10.2/-	9.3/-	14/18	10/3
Trp	11	21	24.2	28.6	13.6	13.6			9	4
His	19	36.4	36.3	36.6	37.2	38.8	30.4	33	37	33
<i>No esenciales</i>										
Asx		118.6	119.3	114	108.6	108.2	122	119	116	128
Glx		173.9	180.7	172	196.1	168.6	169	163	162	192
Ser		47.6	49.6	53	41	44.6	55	55.5	53	51
Gly		40.7	40.2	41.8	39.6	39.4			38	26
Ala		46.9	47	43.5	42.4	46	49.7	38.6	39	32
Arg		70.8	73.5	73.4	82	85	72.3	73	75	81
Pro		45.9	44.7	44.4	46.1	49.9	45	46.3	45	41

¹ Composición de aminoácidos reportados en (g/kg de proteína), para cinco cultivares por Maia et al. (2000).

² CPM, semilla sin cascara; CPC, proteína concentrada; CPI, proteína aislada; PV, vicilina purificada; FAO/WHO (1991), Patrón de requerimiento (mg/g proteína). Rangel et al. (2004).

³ Fenilalanina+Tirosina.

⁴ Metionina+Cisteína.

En la Tabla 6, se muestra la composición de minerales en seis variedades de *Vigna unguiculata* y dos de *Phaseolus vulgaris*. El potasio es el elemento más abundante en los frijoles, mientras que el manganeso es el menor.

Tabla 6. Composición de minerales de diferentes variedades de frijol.

Muestra ¹	Minerales (mg/100 g de muestras)								
	Na	K	Ca	Mg	Mn	Fe	Cu	Zn	P
<i>Vigna</i>									
Jan wake	7.0	2899	161	350	1.4	18.9	4.27	5.01	412
Farin wake	10.6	1146	132	158	1.36	21.6	2.82	4.2	345
Dan Sokoto	6.56	1384	84.5	250	0.54	12.7	3.45	4.85	276
Dan Potiskum	9.17	1075	123	225	1.2	15.0	2.41	3.01	300
Dan Gombe	8.83	1144	130	206	0.93	14.9	2.75	2.97	322
Achusuru	40.4	633	946	26	0.72	1.74	0.61	8.95	442
<i>Phaseolus</i>									
Baki wake	4.2	2324	180	295	1.5	35.1	6.2	2.75	362
Kwakiul	7.5	1960	91.4	180	0.08	8.46	32.5	2.46	245
RDA(mg) ²	1100	1525	800	300	2.5	10	2	15	800

¹ Fuente: Onwuliri y Obu (2002)

² Recomendación mínima diaria en la dieta. (Kermasha et al., 2007, citado por Onwuliri y Obu 2002).

1.2.5 Fracciones proteicas en las leguminosas

La fracción proteica de las leguminosas, se localiza casi exclusivamente en el cotiledón y están constituido de tres grandes grupos: las globulinas, las albuminas y las proteínas insolubles (Montoya, 2007). Las proteínas vegetales pueden fraccionarse de acuerdo a su solubilidad, en albúminas (ALB), solubles en agua; globulinas (GLB), solubles en soluciones salinas; glutelinas (GLT), solubles en soluciones tanto ácidas como básicas; y por último las prolaminas (PRL), solubles en soluciones alcohólicas (revisión Gallegos et al., 2004). Por lo general, la mayor proporción de proteína en granos de leguminosas se encuentra en forma de GLB, seguida por ALB y en menor cantidad como GLT y PRL. Dependiendo de la proporción de cada una de las fracciones proteicas en los granos, será la calidad nutricional de su proteína total, así como las características fisicoquímicas y funcionales (Gallegos et al., 2004).

1.2.5.1 Globulinas (GLB)

Las globulinas son el principal componente de las proteínas de almacenamiento en los tejidos de cotiledones en leguminosas (Freitas et al., 2004). En el caso del caupí esta proteína representa el 51% del total de la proteína del grano (Freitas et al., 2004). Las globulinas están constituidas por las fracciones 7S y 11S de acuerdo con sus coeficientes de sedimentación (Freitas et al., 2004). El tipo 11S son globulinas conocidas colectivamente como leguminas, las más conocidas son las proteínas de soya. Son proteínas oligoméricas de 300-400 kDa, formadas por una asociación de subunidades de polipéptidos alpha y beta que pueden o no ser glicosiladas (Pereira de Sales et al., 1992).

Las globulinas 7S se conocen como vicilinas y son proteínas oligoméricas de aproximadamente 150 kDa cuyas subunidades de polipéptidos también pueden ser glicosiladas, es el segundo grupo mayoritario de globulinas de reserva, dependiendo del grano de leguminosa. Han sido ampliamente estudiadas en cacahuete, soya y recientemente en leguminosas más consumidas en el área mediterránea y países asiáticos (lenteja, garbanzo, guisante; Salcedo y Sánchez, 2005), es la fracción proteica principal de los granos como el frijol y el chícharo. Ambas leguminas y vicilinas son proteínas muy heterogéneas en el sentido de que sus subunidades de polipéptidos son codificadas por familias multigenicas. Esta heterogeneidad es aún mayor en subunidades de glicosilación o glucosilación (Pereira de Sales et al., 1992).

1.2.5.2 Albúminas (ALB)

Esta es una familia de proteínas muy heterogéneas, con diferentes funciones fisiológicas dentro de las semillas. Funciones enzimáticas (lipoxigenasas, glicosidasas y/o proteasas) que participan en la degradación de sus sustratos al momento de la germinación. Otras albúminas como lectinas, inhibidores de proteasas, inhibidores de amilasas participan a los mecanismos de defensa (Montoya, 2007).

Son solubles en agua y en soluciones de baja fuerza iónica, en esta fracción en el amaranto se ha encontrado un grupo de proteínas ricas en metionina conocidas como 2MPRS; también contiene altas concentraciones de lisina, representado casi el doble de lo encontrado en algunos cereales como el maíz y el trigo, y un poco menos de lo

encontrado en algunas leguminosas importantes como chícharo, frijol y soya (Sánchez, 2001).

Estudios electroforéticos han demostrado que las albúminas son proteínas complejas, constituidas por diversos componentes. La fracción de albúmina por lo general compone 12-17% del total de proteínas en una serie de granos de leguminosas. En el caso del caupí, las albúminas componen el 45% de la proteína total (Freitas, 2004).

1.2.5.3 Glutelinas (GLT) y Prolaminas (PRL)

Las prolaminas y las glutelinas son las proteínas que se encuentran en menor proporción en las semillas *Phaseolus*, en un 4 y 2% respectivamente, del total de proteína (Montoya, 2007). En *Canavalia ensiformes* las glutelinas representan el 23% del contenido proteico total, mientras que las prolaminas están ausentes o en muy bajas concentraciones (Ortiz y Ramírez, 2000). En *Vigna unguiculata* las glutelinas se encuentran en menor proporción en un 3% y las prolaminas en un 1% (Freitas et al., 2004).

1.3 Factores antinutricionales

Los factores antinutricionales (FAN) son sustancias naturales generadas por el metabolismo secundario de las plantas, como un mecanismo de defensa ante el ataque de mohos, bacterias, insectos y pájaros. En algunos casos, son productos del metabolismo de las plantas sometidas a condiciones de estrés. Estos FAN reducen el consumo, impidiendo la digestión, la absorción y la utilización de nutrientes por el animal. Su naturaleza, mecanismos de acción y potencia de sus efectos son muy variados y tienen una amplia distribución en el reino vegetal (Belmar y Nava, 1996).

Algunos de los FAN contenidos en las leguminosas son: los taninos, lectinas, inhibidores de proteasas, vicina y convicina, inhibidores de amilasas, oligosacáridos, ácido fítico, etc. En la Tabla 7, se presentan los FAN presentes en algunos granos de leguminosas de uso habitual en alimentación animal.

y de la capa de mucus. Aumenta la proliferación y la descamación de las células epiteliales; espesa y alarga las vellosidades reduciendo drásticamente la absorción de los nutrientes; incrementa la proliferación de bacterias patógenas; aumenta las pérdidas endógenas a nivel de íleon (revisión Leterme, 2002). Sin embargo, a diferencia de las lectinas del frijol (muy tóxicas), las lectinas en el caupí tienen un efecto tóxico muy bajo (Tabla 6). Las lectinas están presentes en frijol alado *Psophocarpus tetranologobus*, *Canavalia ensiformis*, frijol *Phaseolus lunatus* y caupí *Vigna unguiculata*.

1.3.3 Inhibidores de proteasas

Son péptidos que se ligan de manera estable e irreversible a las proteasas del páncreas (ej. tripsina). La disminución de estas enzimas en la concentración del contenido intestinal causa un aumento de las secreciones pancreáticas que tienen como consecuencia un incremento de las pérdidas endógenas (Huisman et al., 1990). Dos tipos de inhibidores se encuentran en la mayoría de los granos de las leguminosas que los contienen: el de Bowman-birk, resistente al calor y que se liga a las dos proteasas (tripsina y quimotripsina), y el de Kunitz, sensible al calor, se encuentra en la soya y es específico de la tripsina (Leterme, 2002).

Se les atribuye un efecto depresor del crecimiento debido a un mecanismo de retroalimentación negativa. Este se activa ante la presencia de proteínas de la dieta en el intestino y la simultánea inactivación de la tripsina, provocándose la liberación de la colecistoquinina (CCK), una hormona de la mucosa intestinal que estimula las células acinares del páncreas para liberar más tripsina y otras enzimas como quimotripsina, elastasa y amilasa. Así, además de la sub-utilización de la proteína dietética, el resultado neto es la pérdida de proteína endógena rica en aminoácidos azufrados y la consecuente depresión del crecimiento. Se han reportado cambios morfológicos de tipo hiperplásticos e hipertróficos en el páncreas de ciertas especies (ratas, ratones, pollos y hámster), lo que no ocurre en otras (revisión Belmar y Nava, 1996). Se encuentran en soya *Glicine max*, frijol *Phaseolus lunatus*, frijol alado *Psophocarpus tetranogolobus* y *Canavalia ensiformis*.

1.3.4 Proteínas antigénicas

Estas proteínas, cuando son administradas a los animales, inducen la síntesis de anticuerpos específicos. Estas moléculas están presentes en la soya y los guisantes, pudiendo actuar como antígenos, causando alteraciones en la pared intestinal y reacciones inmunológicas, debido a ciertos trastornos en la función intestinal de lechones y terneros (Brenes y Brenes, 2003). En el caso particular de la soya, las globulinas y en particular la glicinina y la β -conglucina han sido implicadas en este fenómeno (Brenes y Brenes, 2003).

1.3.5 Fibras

Se conoce que la mayoría de los polisacáridos que no son almidón influyen significativamente en las pérdidas endógenas. El efecto de las fibras es más que todo sobre la pared intestinal. El tipo de fibra es lo más importante (Leterme, 2002). El efecto parece ser debido sobre todo por sus propiedades fisicoquímicas. Fibras solubles, por ejemplo, como las pectinas, forman geles y aumentan la viscosidad del contenido intestinal, lo que causa un aumento de las pérdidas endógenas. Del otro lado, las fibras insolubles aumentan la secreción pancreática de manera significativa (Leterme, 2002).

1.3.6 Vicina y convicina

Son otros compuestos termoestables presentes exclusivamente en los cotiledones de las habas. Estudios realizados por Roblee et al. (1977) y Campbell et al. (1980) citado por Brenes y Brenes (2003) demostraron que a medida que la proporción de habas se incrementaba en la ración de ponedoras, el peso del huevo disminuía y las Unidades Haugh aumentaban. Estos compuestos también afectan la fragilidad de la yema y aumentan la incidencia de manchas de sangre, disminuyen la fertilidad e incubabilidad de los huevos, elevan la concentración de los lípidos plasmáticos y peróxidos e incrementan el grado de hemólisis de los eritrocitos (revisión Brenes y Brenes, 2003). Presentes en haba *Vicia faba*, *Canavalia gladiata*, lenteja *Lens culinaris* y chicharo *Pisum sativum*.

Algunos de los efectos producidos en animales por los FAN ya mencionados se resumen en la Tabla 8.

Tabla 8. Factores antinutricionales (FAN) y sus efectos en animales.

FAN	EFEECTO
Taninos y polifenoles compuestos	<ul style="list-style-type: none">- Forman complejos con enzimas y proteínas- Reducen la digestibilidad de proteínas
Lectinas	<ul style="list-style-type: none">- Daño en las paredes intestinales- Reacciones inmunológicas- Deterioro de la absorción de nutrientes- Incremento de la síntesis de proteína por mucosa- Metabolismo tóxico
Inhibidores de Proteasas	<ul style="list-style-type: none">- Reducción de la actividad de (quimio-) tripsina- Hipertrofia pancreática- Digestión disminuida
Vicina y convicina	<ul style="list-style-type: none">- Anemia hemolítica- Interferencia con fertilidad y % incubación de huevos
Proteínas antigénicas	<ul style="list-style-type: none">- Daño en paredes intestinales- Respuesta inmunológica
Inhibidores de amilasa	<ul style="list-style-type: none">- Desactivación de amilasa salival y pancreática- Reducción de digestibilidad de almidón
Acido fítico	<ul style="list-style-type: none">- Forma complejos con minerales y proteínas- Depresión de la absorción de minerales

Fuente: De Lange et al. (2000), citado por Alvarado (2004).

1.4 Tratamientos térmicos

El valor nutritivo de los granos de leguminosas, es mucho menor del que se podría esperar en relación con su composición química. La presencia de FAN reducen la disponibilidad biológica y la digestibilidad de uno o más nutrientes. Muchos de estos FAN pueden ser inactivados mediante una adecuada aplicación de diversos tratamientos tecnológicos. Se han desarrollado en la industria de la alimentación animal varios métodos de procesado (molienda, granulación, extrusión, expansión, etc.) para mejorar el valor nutritivo de materias primas. Los tratamientos potenciales son numerosos y su elección está en función del sustrato, de su morfología y textura, de su composición y de la localización de los componentes, así como de la sensibilidad de éstos a los diferentes factores físico-químicos que pueden desencadenarse (Brenes y Brenes, 2003).

Se ha confirmado que el tratamiento térmico mejora el valor nutritivo de las proteínas vegetales. El mecanismo de acción de este fenómeno puede estar basado en que facilita el acceso de las enzimas digestivas a los nutrientes, especialmente a las proteínas. A su vez, la efectividad de estos tratamientos depende de una combinación de factores que se relacionan con la temperatura, el tiempo, el tamaño de la partícula del alimento, la humedad inicial y la cantidad de agua añadida durante el proceso de calentamiento (revisión Brenes y Brenes, 2003).

Calor: muchos de los estudios realizados que demuestran la inactivación de estos FAN se han hecho con remojo previo de la semilla y su posterior calentamiento, para potenciar el uso de las leguminosas para alimentación animal, se han utilizado otros tratamientos más económicos, como la granulación, la extrusión, el tostado, etc. Tratamientos como el autoclave han demostrado ser un medio efectivo para disminuir los efectos nocivos de muchos FAN (revisión Brenes y Brenes, 2003). Sin embargo, no es un método de procesamiento económico para ser utilizado en la elaboración de piensos para alimentación animal.

De los FAN brevemente reseñados con anterioridad, los inhibidores de las proteasas y las lectinas son los que por su termolabilidad están más expuestos a ser inactivados por los tratamientos térmicos (Tabla 9). Los resultados demuestran que las lectinas son más sensibles al calor que los inhibidores de la tripsina, siendo la inactivación mucho más efectiva a la extrusión, al autoclave y al calor húmedo que al calor seco. Mientras que los inhibidores de la tripsina pueden ser inactivados por la extrusión, el autoclave, el procesado al vapor o la granulación, la intensidad de esta inactivación está en función de la temperatura, duración del calentamiento, tamaño de la partícula y humedad, también quizás, de la variedad (revisión Brenes y Brenes, 2003).

Granulación: el potencial de la granulación como medio para reducir los inhibidores de las proteasas parece ser muy escaso (revisión Brenes y Brenes, 2003). Con los resultados de Griffiths (1984) citado por Brenes y Brenes (2003), se demostró que los inhibidores de la tripsina y quimotripsina eran estables a temperaturas por debajo de los 80°C.

Extrusión: ha sido utilizada con mucho éxito en la soja, sobre todo en la preparación de raciones para monogástricos. Pruebas de alimentación realizadas con pollos y cerdos

han demostrado que el proceso de extrusión es tan efectivo como el tratamiento con autoclave cuando se utilizan habas. Sin embargo, la extrusión puede ser más difícil de aplicar en las leguminosas debido a su bajo contenido en lípidos, los cuales se comportan como lubricante en el caso particular de la soja, por lo que es necesario añadir agua o vapor a estas semillas antes de ser extrusionadas (Brenes y Brenes, 2003).

Tabla 9. Efecto de tratamientos térmicos sobre la reducción de la actividad inhibidora de la tripsina y las lectinas en frijoles.

Tratamientos	Inactivación (%)	
	Inhibidores de tripsina	Lectinas
Vapor (100°C > 15 min)	65-97	90-100
Autoclave (121°C >15 min)	85-100	99-100
Tostado en seco	54-82	85-99
Extrusión	78-98	93-98

Fuente: Van der Poel (1990) citado por Brenes y Brenes (2003).

1.5 Digestibilidad de proteínas

La digestibilidad es una forma de medir el aprovechamiento de un alimento, es decir, la facilidad con que es convertido en el aparato digestivo en sustancias útiles para la nutrición. Comprende dos procesos, la digestión que corresponde a la hidrólisis de las moléculas complejas de los alimentos, y la absorción de pequeñas moléculas (aminoácidos, ácidos grasos) en el intestino (Manríquez, 1993).

Los aminoácidos en los alimentos no siempre están disponibles. La degradación de las proteínas, así como su absorción puede ser incompleta. El porcentaje promedio de digestión y absorción en proteínas de origen animal es alrededor de un 90%, siendo el de las proteínas de origen vegetal de sólo un 60 a un 70% aproximadamente (González et al., 2007). La digestibilidad se ve limitada por:

- La conformación de la proteína ya que las proteasas atacan a las proteínas insolubles más lentamente que a las proteínas globulares solubles.
- La unión a ciertos metales, lípidos, ácidos nucleicos, celulosa u otros polisacáridos, puede ver limitada parcialmente su digestibilidad.
- Factores antinutricionales afectan la digestión y la absorción de aminoácidos.

- El tamaño y superficie de la partícula donde se encuentran las proteínas (González et al., 2007).

1.5.1 Digestibilidad *in vivo* de las leguminosas

El valor nutricional de un ingrediente para animales puede ser determinado por su contenido de nutrientes disponible en especial por su aporte de aminoácidos (AA) y energía (revisión Gutiérrez et al., 2005). La absorción de AA sucede hasta la última porción del intestino delgado (íleon). Por consiguiente, la digestibilidad ileal de los AA es uno de los factores más importantes para calificar la calidad de la proteína de la dieta y la respuesta productiva de los animales (Gutiérrez et al., 2005).

1.5.1.1 Técnicas para determinar digestibilidad a nivel ileal

La determinación experimental de la digestibilidad ileal requiere la utilización de medios sofisticados, ya que la digesta tiene que ser recogida al final del intestino delgado. Son cuatro técnicas las que se han propuesto como las más importantes para la determinación experimental de la digestibilidad ileal: la técnica del sacrificio, la anastomosis ileo-rectal y la implantación en el íleon de una cánula tipo T o de una cánula re-entrante (Jondreville y Gálvez, 1995).

Con la técnica de la anastomosis ileo-rectal, la recolección se hace desde el ano de la digesta del intestino delgado. Con la técnica de la implantación de cánula reentrante, la digesta circula fuera de la cavidad abdominal permitiéndose de esta forma la recolección total y continua de muestras. Una vez tomadas las muestras, la digesta circula de nuevo por el aparato digestivo. Mediante la implantación de una cánula tipo T es posible acceder a la digesta en el lugar del intestino donde está implantada (final del íleon). Con esta técnica no es necesario seccionar el intestino, pero permite solamente un muestreo parcial de la digesta (Jondreville y Gálvez, 1995). La implantación de una cánula re-entrante permite la determinación de la digestibilidad sin tener que recurrir al uso de marcadores indigestibles, lo cual resulta ser totalmente necesario cuando se emplean las técnicas de sacrificio y de cánula T.

1.5.1.2 Digestibilidad aparente y verdadera

La digestibilidad ileal o fecal puede ser aparente, considerando que todo el nitrógeno que llega al final del íleon o en las heces es de origen alimenticio. En otros términos, el nitrógeno perdido puede ser compensado por un aporte similar en la dieta. La digestibilidad verdadera hace una corrección por las pérdidas endógenas basales (con la ayuda de una dieta sin proteína) y considera que las últimas son constantes e independientes de la dieta (Leterme, 2002).

La digestibilidad aparente ileal de un AA varía con el nivel de ingestión de dicho AA, los coeficientes de digestibilidad determinados para una determinada materia prima dependen del nivel de inclusión de la misma en la dieta experimental. Esta es una de las causas más importantes de variación de los datos que sobre digestibilidad ileal aparente de los AA existen en las distintas referencias bibliográficas (Jondreville y Gálvez, 1995).

Se han realizados estudios de digestibilidad *in vivo* en leguminosas de grano con el fin de utilizarlas como fuente de proteína en reemplazo de materias primas tradicionales en las raciones de monogástricos, algunos de los resultados de estos estudios se muestran en la Tabla 10.

Tabla 10. Digestibilidades *in vivo* de algunas leguminosas de grano en monogástricos.

Leguminosa ¹	Presentación		Digestibilidad (%) ²		Autor
	Crudo	Tratamiento	Ap.	Verd.	
Frijol perlas	-	Cocción	-	78	Pires et al., 2006
Soya convencional	-		-	72	Pires et al., 2006
Soya texturizada	-		-	86	Pires et al., 2006
Frijol	si	Cocción	-	78/82	Bilbao, 2000
Chicharo	si	Cocción	-	87/90	Bilbao, 2000
Canavalia	-	Tostado	42	-	Michelangeli et al., 2004b
Lupino	-	Extrucción	85	-	Hettich, 2004
Soya			81	-	Castro et al., 2001
Caupí	si		68	-	Castro et al., 2001

¹Frijol, *Phaseolus vulgaris*; soya, *glycine max*; chicharo, *Pisum sativum*; Canavalia, *Canavalia ensiformis*; Lupino, *lupinus albus*; Caupí, *Vigna unguiculata*.

²Digestibilidad aparente y verdadera (%)

Tshovhote et al. (2003) encontraron en un estudio con gallos Leghorn digestibilidades verdaderas de aminoácidos utilizando tres cultivares de caupí, las cuales se muestran en la Tabla 11. La metionina presento los valores más altos de digestibilidad, mientras que la lisina presento los más bajos en todos los cultivares.

Tabla 11. Concentraciones de aminoácidos totales y sus digestibilidades para tres cultivares comerciales de caupí (*Vigna unguiculata*).

<i>Aminoácidos</i>	Indigenous		Agrinawa		Glenda	
	Total ¹	Digestibilidad ²	Total	Digestibilidad	Total	Digestibilidad
Treonina	0.86	78	0.84	71	0.84	75
Valina	1.27	78	1.19	70	1.24	75
Metionina	0.28	82	0.23	80	0.31	82
Isoleucina	1.12	78	1.06	70	1.01	74
Leucina	1.90	79	1.80	72	1.74	76
Tiroxina	0.54	79	0.56	70	0.59	78
Fenilalanina	1.41	79	1.34	71	1.27	76
Histidina	0.79	76	0.75	72	0.74	75
Lisina	1.67	75	1.61	70	1.52	74
Arginina	1.77	83	1.65	75	1.52	78
Promedio		79		77		76

¹ Concentración de aminoácidos reportada en (g/kg de MS) para tres cultivares (Tshovhote et al., 2003).

² Digestibilidad verdadera (%).

1.5.2 Digestibilidad *in vitro*

Dado que el análisis de proteína cruda no suministra información alguna en cuanto a la digestibilidad de una fuente de proteína, un procedimiento de laboratorio para determinar la digestibilidad es extremadamente útil. Este es precisamente el objetivo de la prueba de la digestibilidad *in vitro* que es un procedimiento de control de calidad que intenta proporcionarnos información adicional en relación al valor nutricional verdadero de las fuentes de proteína tanto de origen animal como vegetal. Es muy importante tener en cuenta que en el tracto digestivo existen enzimas que ayudan a desdoblar las proteínas y que las condiciones son mucho más complejas que las que pueden simularse en un laboratorio. Por lo tanto, los resultados de digestibilidad que se obtienen mediante diferentes métodos nunca deberán confundirse con la digestibilidad verdadera de la materia prima (Castro y Ávila, 1993).

En un estudio realizado en *P. lunatus*, la digestibilidad *in vitro* de sus fracciones proteicas resultó ligeramente más baja que la reportada por Pérez (1999) citado por Gallegos et al. (2004) para harina cruda de *P. lunatus* con 72%. La digestibilidad *in vitro* (DIV) de las fracciones proteicas de *P. lunatus* se muestran a continuación en la Tabla 12, comparadas con la DIV de fracciones proteicas de algunas leguminosas.

Tabla 12. Digestibilidad *In vitro* (DIV) de las fracciones proteicas de *P. lunatus*.

Fracción Proteica	Digestibilidad <i>In vitro</i> %			
	<i>P. lunatus</i>	<i>C. ensiformis</i> ¹	<i>Phaseolus vulgaris</i> ²	<i>Vicia faba</i> ³
Albumina	69 ^b	59		
Globulina	80 ^a	65	79	70
Prolamina	66 ^b	nr		
Glutelina	67 ^b	37		

Literales diferentes en la misma columna indican diferencia estadística (p<0,05); nr: no reportado

¹ FAO/WHO, 1991 citado por Gallegos et al. (2004).

² Del Pino (1996) citado por Gallegos et al. (2004).

³ Carbonaro et al. (1992) citado por Gallegos et al. (2004).

Las diferencias de DIV presentes en las fracciones proteicas de las leguminosas comparadas en la Tabla 12, pueden estar asociadas a la estructura de las proteínas, ya que al tener ligeras diferencias en estructura terciaria y cuaternaria presentan diferente susceptibilidad a las enzimas proteolíticas (revisión Gallegos et al., 2004). Algunos estudios en digestibilidades *in vitro*, reportados para leguminosas de grano se muestran en la Tabla 13.

Tabla 13. Digestibilidades *in vitro* de algunas leguminosas de grano.

Leguminosa ¹	Presentación		Digestibilidad (%)	Autor
	Crudo	Tratamiento		
Frijol	si	Cocción	76/80	Bilbao, 2000
Chicharo	si	Cocción	79/80	Bilbao, 2000
Torta de soya			96	Gonzalvo et al., 2001
Frijol			89	Gonzalvo et al., 2001
Soya	si		71	Serratos, 2000

¹Frijol, *Phaseolus vulgaris*; soya, *glycine max*; chicharo, *Pisum sativum*.

1.6 Ensayos biológicos

Los métodos biológicos se basan en la ganancia en peso o en la retención de nitrógeno en ensayos con animales (ratas o cerdos) como modelo experimental, que son alimentados con dietas que contengan la proteína a analizar (López et al., 2006).

En investigaciones de nutrición con monogástricos la rata es utilizada como modelo experimental del cerdo, un modelo experimental es una aproximación a la realidad, su validez depende de su capacidad para generar resultados que sean extrapolados a otras especies (Miján, 2002).

1.6.1 Pruebas de crecimiento

1.6.1.1 Peso corporal

Es la ganancia de peso del animal, la cual proviene de la asimilación en los tejidos corporales de los nutrientes incorporados. Suele utilizarse para valorar la respuesta de los animales como unidad experimental ante ensayos con dietas y prácticas de manejo. Los cambios de peso corporal guardan una estrecha relación con la producción y degradación de la masa (revisión Acero, 2000).

1.6.1.2 Crecimiento

El crecimiento es el aumento de estatura y dimensión del esqueleto. Bajo condiciones normales, una prueba de crecimiento incluye el suministro *ad libitum* de una dieta específica, si se conoce el índice de ganancia de peso y el consumo total del alimento se puede calcular la conversión alimenticia (Acero, 2000).

1.6.1.3 Conversión alimenticia

La proteína de la dieta es transformada a proteína tisular mediante la hidrólisis producida por las enzimas proteolíticas. La eficiencia con que se efectuó la hidrólisis determina el grado de absorción de los aminoácidos y contribuye al valor nutricional de la proteína de la dieta. Las proteínas que no contienen el balance adecuado de aminoácidos para llenar las necesidades del animal, no pueden utilizarse eficazmente

para la producción de proteína tisular y provocan deficiencias en el crecimiento de animales jóvenes (revisión Acero, 2000).

1.6.1.4 Consumo de alimento

Las dietas pobres en proteína o mal balanceadas, en uno o más de sus aminoácidos, disminuye el consumo, así mismo dietas ricas en proteína disminuye el consumo del alimento en virtud de la regulación termostática y la disminución con las enzimas relacionadas con el catabolismo. Las ratas tienden a tener un consumo constante como respuesta a la sobrevivencia. Cuando existe un exceso o niveles muy bajos de proteína, el consumo disminuye. Por un lado, no existen suficientes enzimas digestivas para digerir grandes cantidades de proteína, cuando el aporte de estas es bajo entonces posiblemente el aporte energético será alto y por esta razón decrece el consumo (revisión Acero, 2000).

1.6.1.5 Relación eficiencia proteica (PER)

Osborne y Mendel (1919) establecieron el concepto razón de eficiencia proteica al darle una base cuantitativa al crecimiento de las ratas como una medida del valor nutritivo de la proteína, midiendo el aumento de peso por gramo de proteína ingerida de una dieta ajustada al 10% de proteína, con una duración de 28 días (Falcón-Villa et al., 2006).

En un animal en crecimiento, el proceso metabólico más importante es la retención de nitrógeno. Este mecanismo, es por tanto de gran importancia para el establecimiento de las necesidades del animal, y es primordial disponer de una descripción correcta de las variaciones de este parámetro frente a diferentes factores. Las variables que afectan de forma importante a la deposición de proteína, son el peso vivo, la genética del animal y el tipo sexual (macho, hembra, castrado), también otros factores que pueden modificar la retención de nitrógeno como son la temperatura, condiciones ambientales y enfermedades (revisión Lizaso, 1994).

1.6.2 Calidad de las proteínas

El aprovechamiento de una proteína no depende únicamente de su origen. Varios factores como: a) la combinación con otras proteínas, otras moléculas o nutrientes en los procesos de digestión, absorción; b) algunos aminoácidos puedan estar en formas químicas no utilizables, etc. El término “calidad proteica” se refiere a la capacidad de una proteína de la dieta para incorporarse en las proteínas corporales y se puede estimar a través de varios indicadores, dentro de los que se destaca el valor biológico.

1.6.2.1 Valor biológico (VB)

El valor biológico está definido como la proporción en que se encuentra un aminoácido indispensable limitante con respecto al patrón de referencia. Por definición, se entiende como aminoácido limitante a aquel en el que el déficit es mayor comparado con la proteína de referencia como lo es la caseína o la proteína del huevo. Es decir, aquel que una vez realizado el cálculo, da el valor químico más bajo (Gonzales et al., 2007).

Este método relaciona el nitrógeno ingerido que retiene el animal, con el nitrógeno absorbido. Se debe tener en cuenta las pérdidas endógenas de nitrógeno, tanto urinarias como fecales. Esto permite establecer el nivel de proteína requerido para obtener un balance positivo de nitrógeno y describir diferentes alteraciones en las proteínas debidas al procesamiento. Puede servir incluso para satisfacer demandas en situaciones fisiológicas como crecimiento, lactancia y gestación (Gonzales et al., 2007). El VB fue definido por Thomas en 1909.

1.6.2.2 Utilización Neta de la Proteína (NPU)

Es el método usado más frecuentemente (definido por Bender y Miller, 1953) para medir la calidad de las proteínas, estima la retención de nitrógeno en el animal, es determinado por el nitrógeno retenido en el tejido corporal. Se lleva a cabo mediante el cálculo de la suma de nitrógeno contenido en orina y heces, y en pérdidas a través de diferentes vías, como piel y sudor. La medición del balance de nitrógeno es difícil, ya que representa una diferencia pequeña en términos de cantidad de N consumido y excretado (Gonzales et al., 2007).

Entre los parámetros básicos a tener en cuenta a la hora de evaluar el valor nutritivo de una ración, se encuentran aquellos relacionados con la utilización de la proteína.

Además, los granos de leguminosas se utilizan fundamentalmente como concentrados proteicos. Por tanto, es particularmente importante estudiar la utilización biológica de la proteína de estas materias primas. En general, puede decirse que la utilización neta de la proteína (NPU) no pasa del 65-70% en animales en crecimiento alimentados con este tipo de raciones, mientras que los valores observados con proteínas de origen animal suelen superar el 90% (Rubio y Brenes, 1995).

En la Tabla 14, se muestran algunos valores para las diferentes variables que evalúan la calidad de las proteínas en leguminosas de grano.

Tabla 14. Calidad nutricional de algunas leguminosas de grano.

Leguminosa ¹	Tratamiento	Variables (%)				Autor
		PER	NPR	VB	NPU	
Caseína (ref.)		4.3	5.1	-	-	Pires et al., 2006
Frijol perlas	Cocción	2.1	3.4	-	-	Pires et al., 2006
Soya convencional		1.7	2.9	-	-	Pires et al., 2006
Soya texturizada		2.9	4.1	-	-	Pires et al., 2006
Frijol	Crudo-cocción	-	-	60/63	47/51	Bilbao, 2000
Chicharo	Crudo-cocción	-	-	63/63	55/57	Bilbao, 2000

¹Frijol, *Phaseolus vulgaris*; soya, *glycine max*; chicharo, *Pisum sativum*.

1.7 Uso de leguminosas en la alimentación de monogástricos

Los requerimientos proteicos para monogástricos se consideran en términos de aminoácidos esenciales y, concretamente, del balance relativo de estos aminoácidos. La utilización neta de la proteína de las raciones basadas en leguminosas de grano en monogástricos, está en torno al 65 y 70% en animales en crecimiento (revisión Morales, 2006).

Cabezas et al. (1982) evaluaron la calidad nutricional de tres leguminosas tropicales: fríjol bayo *Vigna unguiculata* (FB), fríjol alado *Psophocarpus tetragonolobus* (FA) y quinchoncho *Cajanus cajan* (Q) para la alimentación de aves. Los análisis relativos a FAN indicaron la presencia de taninos condensados solamente como trazas en las tres leguminosas evaluadas. En la Tabla 15, se muestra la composición química, los valores

de energía metabolizable y digestibilidad del nitrógeno los cuales indican que las leguminosas estudiadas son fuentes potenciales de energía y proteína para las aves.

Tabla 15. Composición química y digestibilidad de frijol bayo *Vigna unguiculata* (FB), frijol alado *Psophocarpus tetragonolobus* (FA) y quinchoncho *Cajanus cajan* (Q).

	Composición nutricional (%)		
	FB	FA	Q
Proteína cruda	26	37	20
Extracto etéreo	1	17	2
Almidón	36	15	30
Digestibilidad N	54	79	81
EMVN Kcal/kg MS ¹	2963	2836	2512

¹EMVN, energía metabolizable. Cabezas et al. (1982).

Molina et al. (1983) estudiaron el valor energético y proteico de la semilla de altramuza blanca (*Lupinus albus* var. multulupa) frente a la torta de soya, en pollos en crecimiento. Encontraron que las diferencias no fueron estadísticamente significativas, derivadas de la inclusión de altramuza en la dieta, respecto al crecimiento. Sin embargo, el tratamiento térmico de la semilla a 120°C durante 30 min, aumento el crecimiento y la energía metabolizable.

En Canadá, diversos estudios han demostrado que la arveja forrajera es un componente eficaz de la dieta de gallinas ponedoras. Un estudio de corta duración (ocho semanas), demostró que la adición hasta un 50% de arveja forrajera en la dieta de gallinas de raza Leghorn no producía efecto sobre la producción de huevos, la ingesta y la conversión del alimento. Además, se presento un ligero aumento en el peso de los huevos a medida que el nivel de la arveja forrajera en la dieta aumentaba (Castañón (1990) citado por Jabib et al., 2002). Al alcanzar el nivel de inclusión del 50% durante la última semana, la producción de huevo decayó por razones que no explicaron. Así, para la dieta de gallinas ponedoras los autores recomiendan un nivel máximo de inclusión del 33% de arveja forrajera.

Aguilera et al. (1984) citado por Morales (2006) estudiaron la capacidad de utilización de diversas leguminosas de grano incluidas en dietas de pollos broiler, el efecto del tratamiento térmico (120°C durante/30 min) y la incorporación de lisina y metionina. La inclusión de las leguminosas en la dieta redujo el crecimiento, el balance de N y la retención energética total, e incremento la producción de calor y deposición de grasa. El tratamiento térmico aumento el contenido metabolizable de las dietas que contenían veza (*Vicia sativa*) y altramuz; la retención de N en pollos alimentados con la dieta que contenía veza. Se observo un aumento en la síntesis proteica con dietas suplementadas.

Jabib et al. (2004) evaluó el efecto de tres niveles de caupí (0, 10 y 20%) en dos presentaciones (crudo y cocido) sobre la ganancia de peso, el consumo y la conversión alimenticia de pollos comerciales para ceba. No encontraron diferencias ($P > 0.05$) entre niveles y/o presentación del fríjol en ninguna de las variables estudiadas (Tabla 16).

Tabla 16. Efecto de dos niveles de *Vigna unguiculata* 10 y 20% con y sin tratamiento térmico en pollos para ceba.

Variables	Tratamientos y niveles de incorporación (%)				
	0	Crudo 10	Cocido 10	Crudo 20	Cocido 20
Ganancia peso (g)	1.99	1.98	1.9	2.0	2.0
Consumo (g)	4.0	4.1	3.9	4.1	4.1
Conversión Alimenticia	2.0	2.1	2.1	2.0	2.1

Fuente: Jabib et al. (2002).

Castanon y Pérez (1990), citado por Morales (2006) estudiaron el efecto de inclusión de habas, veza, altramuz y guisantes seleccionados en dietas para gallinas ponedoras. Concluyeron que el altramuz y los guisantes pueden competir con la soya, teniendo en cuenta la proporción en la que se incluye y los posibles efectos tóxicos asociados con los factores antinutricionales. Obtuvieron una relación negativa entre la concentración en la dieta de habas y veza y la ingesta y producción de huevos. Por otro lado, observaron que la inclusión de guisante y altramuz en cantidades de 300 y 200 g/kg, respectivamente no afectó la productividad.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar el valor nutricional de el caupí (*Vigna unguiculata L.*) como fuente de proteína alternativa a la torta de soya en la nutrición de monogástricos.

2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Determinar la digestibilidad aparente y verdadera a nivel fecal e ileal del N, en dietas con diferentes niveles de caupí crudo en ratas.
- Determinar la digestibilidad aparente y verdadera a nivel fecal e ileal del N, en dietas con diferentes niveles de caupí y tratamiento térmico en ratas.
- Evaluar el efecto de la proteína total del caupí sobre el crecimiento y la retención proteica en ratas.

3. METODOLOGÍA

El presente trabajo se desarrolló en 3 Fases. En la **Fase I** se midió el efecto de la inclusión de diferentes niveles de caupí crudo sobre la digestibilidad fecal e ileal en ratas. Igualmente, se determinó la digestibilidad *in vitro* de las dietas utilizadas. En la **Fase II** se midió el efecto de diferentes tratamientos térmicos y niveles de inclusión de la proteína de las dietas con caupí, sobre las mismas variables de la fase I. En la **Fase III** se evaluó el valor nutricional del caupí crudo y cocido, mediante una prueba de crecimiento y retención proteica en ratas.

3.1 Localización

Las pruebas biológicas se realizaron en la Unidad de Metabolismo Animal de la Granja Mario González Aranda. Los análisis de las muestras colectadas y las pruebas de digestibilidad *in vitro* fueron realizados en el laboratorio de Nutrición Animal de la Universidad Nacional de Colombia sede Palmira. Ambas instalaciones se encuentran a una altura de 1000 msnm, temperatura promedio de 24 °C, precipitación de 1000 mm y una humedad relativa del 74%.

3.2 Materiales y equipos

3.2.1 Equipos

Diferentes equipos fueron usados durante la realización del presente trabajo. Entre ellos se usaron: un espectrofotómetro, molino, equipo Kjeldahl, liofilizador, equipo de cirugía, pH-metro, jaulas metabólicas, bomba calorimétrica, equipo de Soxhlet, estufas.

3.2.2 Animales

Para cada experimento, se utilizaron ratas Wistar provenientes del bioterio Zoológico de Cali, las cuales fueron ubicadas en jaulas metabólicas tipo Nalgene y

utilizadas cada una, como una unidad experimental. El número y el peso corporal de las ratas para cada una de las fases, dependió del experimento y de su diseño experimental.

3.2.3 Origen de los granos de caupí

El caupí (*Vigna unguiculata*) utilizado para el desarrollo del presente trabajo era proveniente del programa de Pastos y Forrajes Tropicales del Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Palmira. La accesión utilizada de caupí, fue la 9611.

3.3 FASE I. Niveles de caupí crudo en las dietas

3.3.1 Animales

Treinta ratas con un peso corporal promedio de 156 ± 10.2 g fueron utilizadas. Seis animales por tratamiento (dieta), asignados al azar fueron puestos individualmente en las jaulas metabólicas. Para la determinación de las pérdidas endógenas basales de nitrógeno, seis animales fueron alimentados con una dieta sin proteína (DSP).

3.3.2 Dietas experimentales

Se evaluaron cuatro dietas experimentales, balanceadas en proteína (10%) y fibra detergente neutra (FDN, 7.5%). Esta última fue balanceada de acuerdo a la dieta con mayor inclusión de caupí. Es decir, que las dietas fueron balanceadas con cascarilla de arroz de acuerdo al contenido de FDN de la dieta con 100% de incorporación de caupí. La dieta control tuvo como única fuente de proteína la caseína (100 g/kg de dieta). La caseína fue reemplazada en un 33, 67 y 100% por la proteína del caupí (Tabla 17). Se utilizó un marcador indigerible óxido de cromo (Cr_2O_3), para la determinación del flujo de materia seca y de la digestibilidad a nivel ileal.

Tabla 17. Composición y contenido nutricional de las dietas experimentales (Fase I) con diferentes niveles de inclusión de caupí crudo en ratas.

	Niveles de caupí (%) ¹				DSP ²
	0	33	67	100	
<i>Ingredientes (g/kg MS)</i>					
Caseína	115	77	42	-	-
Caupí	-	134	310	460	-
Cascarilla de arroz	120	80	30	-	120
Almidón	525	469	378	300	640
Otros ³	240	240	240	240	240
<i>Composición (g/kg MS)</i>					
Proteína	111	98	112	114	9
EE ⁴	108	108	111	109	109
Cenizas	52	49	52	45	50
FDN ⁴	74	76	71	70	74
Energía bruta (Kcal/kg MS)	3981	3968	3933	3906	3947

¹Dieta: 0, control; 33, 67 y 100 % niveles de reemplazo de la caseína

²DSP: dieta sin proteína

³ Aceite 100 g/kg; Azúcar 100 g/kg; vitaminas y minerales 40 g/kg (oligoelementos 10 g/kg; CaPO₄ 14 g/kg; CaCO₃ 3 g/kg; NaCl 1.5 g/kg; KCl 7 g/kg; MgSO₄ 1.5 g/kg; Cr₂O₃ 3 g/kg.)

⁴EE, extracto etéreo, FDN, fibra detergente neutra.

3.4 FASE II. Tratamientos térmicos y niveles de caupí en las dietas

3.4.1 Animales

Se utilizaron 50 ratas Wistar machos, con un peso corporal promedio de 180 g \pm 15 g. Cinco animales por tratamiento fueron asignados al azar.

3.4.2 Preparación del caupí

Diferentes procesamientos térmicos fueron realizados al caupí. Los granos fueron puestos en remojo en agua destilada a temperatura ambiente por una noche. Al día siguiente, se hizo cambio del agua, una parte fue autoclavada (121 °C por 20 min) y la otra se llevó a ebullición a 100 °C por 5 y 20 min. Luego se congelaron, liofilizaron y se pasaron por un molino para la preparación de las dietas experimentales.

3.4.3 Dietas experimentales

Se evaluaron 10 dietas experimentales (Tabla 18). Al igual q en la Fase I, las dietas fueron balanceadas por proteína y FDN. Se utilizaron dos dietas control, una con torta de soya y la otra utilizando caseína (100 g/kg de dieta). Para las demás dietas, la torta de soya fue reemplazada en un 50 y 100% por la proteína del caupí con tratamiento térmico como se explica anteriormente (5 y 20 min ebullición y 20 min autoclavado) y crudo. Se utilizó un marcador indigerible óxido de cromo (Cr₂O₃), para la determinación del flujo de materia seca y de la digestibilidad a nivel ileal. Una dieta sin proteína (DSP) fue utilizada para determinación de las pérdidas endógenas basales de proteínas y para calcular la digestibilidad verdadera.

Tabla 18. Composición y contenido nutricional de las dietas experimentales (Fase II) con diferentes tratamientos térmicos y niveles de inclusión de caupí en ratas.

	Controles ¹		Caupí ¹							
	C	S	Crudo	Cocción				Autoclave		
				5 min (100°C)		20 min (100°C)		20 min (121°C)		
Nivel %			50	100	50	100	50	100	50	100
<i>Ingredientes (g/kg MS)</i>										
Caseína	110	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T. Soya	-	203	55	-	102	-	102	-	102	-
Caupí	-	-	198	395	198	395	199	398	201	402
Cascarilla	130	100	66	2	50	2	50	1	50	-
Almidón	471	410	395	316	363	316	362	314	360	311
Otros ²	287	287	287	287	287	287	287	287	287	287
<i>Composición (g/kg MS)</i>										
Proteína	114	116	114	105	112	112	109	103	110	105
EE ⁴	89	119	105	115	100	149	112	129	101	125
Cenizas	54	64	48	44	47	37	53	45	49	40
FDN ⁴	150	161	186	177	230	248	206	232	255	211
EB (Kcal/kg) ⁴	4098	3495	3977	3134	3736	4098	3495	4098	3977	3495

¹ Dietas control (caseína, T. de soya), caupí crudo y tratamientos térmicos con dos niveles de reemplazo (50 y 100%)

² DSP: dieta sin proteína.

³ Aceite 100 g/kg; Azúcar 100 g/kg; vitaminas y minerales 40 g/kg (oligoelementos 10 g/kg; CaPO₄ 14 g/kg; CaCO₃ 3 g/kg; NaCl 1.5 g/kg; KCl 7 g/kg; MgSO₄ 1.5 g/kg; Cr₂O₃ 3 g/kg.)

⁴EE, extracto etéreo, FDN, fibra detergente neutra, EB, energía bruta.

3.4.4 Periodo experimental (Fase I y II)

Los animales fueron alimentados durante un periodo de 10 días, de los cuales los primeros cinco días fueron de acostumbramiento y los últimos 5 días fueron de recolección de heces. El suministro de alimento por animal fue de 15 g/d (10% del PV).

El consumo de agua fue a voluntad. Una vez recolectadas las heces se almacenaron en el congelador a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, para su posterior análisis.

Por la disponibilidad de jaulas, los experimentos se desarrollaron en 2 y 5 periodos para la Fase I y Fase II, respectivamente. En cada periodo se distribuyeron las dietas al azar. La DSP, se montó una vez concluida cada una de las fases.

3.4.5 Sacrificio de animales y recolección de contenido intestinal

Una vez terminado el periodo de recolección de heces, los animales fueron sometidos a un ayuno de un día. Al día siguiente, se suministró alimento a los animales tres horas antes del sacrificio. Estos fueron eutanasiados con una inyección de Rompun y Ketamina (1:1, v:v). Una incisión longitudinal en la parte abdominal fue inmediatamente realizada para extraer el tracto gastrointestinal el cual fue pesado. Se hicieron mediciones y pesajes de los diversos compartimientos (estómago, intestino delgado, ciego y colon) llenos y vacíos. Se midió el pH del estómago y ciego. Igualmente, se recuperó y congeló el contenido ileal (últimos 20 cm del intestino delgado) para la determinación de la digestibilidad ileal.

3.4.6 Análisis de laboratorio

Las dietas experimentales y las heces colectadas fueron sometidas a los siguientes análisis:

Materia seca: después de ser liofilizadas, las muestras fueron sometidas a una temperatura de $105\text{ }^{\circ}\text{C}$ en un horno por 24 horas.

Cenizas: se determinó por incineración en la mufla a una temperatura de 600°C por 4 horas.

Nitrógeno: se utilizó el método Kjeldahl con el cual se determinó el contenido de nitrógeno de las muestras y este fue multiplicado por el factor 6.25 para estimar el contenido de proteína bruta.

Energía bruta: se utilizó un bomba calorimétrica para determinar la energía bruta en kcal/kg contenida en las muestras de las dietas y heces.

Fibra Van Soest: se determinó el contenido de fibras insolubles (celulosa, hemicelulosa y lignina). El método que se utilizó es el propuesto por la técnica de ANKOM.

Extracto etéreo: se utilizó el método de extracción con éter utilizando un aparato de soxhlet, con el cual es posible extraer grasa libre de las muestras.

Oxido de cromo: para las determinaciones del contenido de cromo en las muestras de las dietas y heces se utilizó la técnica de Furukawa & Tsukahara (1966). El oxido de cromo es convertido a cromato por una digestión con ácido nítrico y perclórico. La concentración de cromo de las muestra es leída en un espectrofotómetro a 340 nm. Los datos se compararon con una curva estándar determinada a partir del dicromato de potasio.

3.4.7 Cálculos específicos (Fase I y II)

Los coeficientes de **digestibilidad fecal aparente y verdadera** de la MS, del N, energía y energía digestible fueron calculados con las siguientes ecuaciones:

$$\text{Digestibilidad aparente fecal del N} = [(Ni - Nf)] \times 100 / Ni$$

$$\text{Digestibilidad verdadera fecal del N} = [(Ni - Nf - Ne)] \times 100 / Ni$$

Donde Ni, es el nutriente ingerido; Nf es el nutriente fecal excretado; y Ne es el nitrógeno endógeno fecal medido con la dieta sin proteína.

$$ED = \text{contenido de energía en la dieta} \times \text{digestibilidad de la energía} / 100$$

Donde ED, es la energía digestible en Kcal/kg.

La digestibilidad ileal se calculo usando las siguientes ecuaciones:

$$\text{Digestibilidad Aparente ileal (DAI)} = (100 - [(Nd / Na) \times (Cra / Crd)]) \times 100$$

$$\text{Pérdidas Endógenas de N (FEN)} = [Nd \times (Cra / Crd)]$$

$$\text{Digestibilidad Ileal verdadera} = \text{DAI} + [(FEN / Nd) \times 100]$$

Donde FEN es las pérdidas endógenas de N; Nd es el nutriente contenido en la digesta ileal; Na es el nutriente contenido en el alimento; Cra es el contenido del cromo en el alimento; y Crd es el contenido de cromo en la digesta ileal (Smiricky et al., 2002).

3.4.8 Diseño experimental (Fase I)

Se utilizó un diseño completamente al azar con cuatro tratamientos (control y tres niveles de inclusión de caupí). Seis repeticiones por tratamiento, para un total de 24 unidades experimentales. Efectos lineales, cuadráticos y cúbicos del nivel del caupí crudo fueron probados usando contrastes polinomiales ortogonales. En este análisis y en todos los posteriores se usó el procedimiento MIXED del programa estadístico de SAS (SAS/STAT versión 9.1, 2002; SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

Modelo estadístico

$$Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ij}$$

Donde:

μ = Media general

T_i = Efecto del tratamiento i

E_{ij} = Efecto del error experimental ij

3.4.9 Diseño experimental (Fase II)

Se utilizaron dos diseños. En el primero uno completamente al azar donde se probaron todos los tratamientos como dietas independientes (diez tratamientos), donde fueron incluidos los dos tratamientos control (torta de soya, caseína).

En el segundo análisis, un diseño completamente al azar con un arreglo factorial (4x2) fue usado, cuatro tratamientos (crudo, autoclave 20 min, ebullición 5 y 10 min) con dos niveles de inclusión (50 y 100 %). Cinco repeticiones por tratamiento para un total de 50 unidades experimentales.

Modelo estadístico

$$Y_{ij} = \mu + N_i + T_j + N_i T_j + E_{ij}$$

Donde:

μ = Media general

N_i = Efecto del nivel de sustitución i

T_j = Efecto del tratamiento térmico j

$N_i T_j$ = Interacción (nivel de sustitución x tratamiento térmico)

E_{ij} = Efecto del error experimental ij

3.5 Cinética de DIGESTIBILIDAD *IN VITRO* de las proteínas

Con el fin de comparar los valores de digestibilidad de la proteína *in vivo* obtenidos en la Fase I y II, se realizó una cinética de hidrólisis enzimática a las dietas de ambas Fases. Esta simula el tracto digestivo de los monogástricos (estómago e intestino delgado) con las mismas enzimas (pepsina y pancreatina), las mismas condiciones de pH y temperatura.

3.5.1 Proteasas

Para estudiar la hidrólisis secuencial de las dietas se utilizó preparaciones comerciales de pepsina (ref. 107197, Merck) y pancreatina (ref. P1750, Sigma) porcina.

3.5.2 Protocolo de hidrólisis enzimática

Todas las hidrólisis *in vitro* fueron realizadas bajo continua agitación. Las dietas fueron mezcladas con HCl 0.1 N pH 2.0 (9.4 mg proteína/ml de HCl) y preincubadas por 30 minutos a 39 °C, con el fin de homogenizar la mezcla. Luego la pepsina se agregó al medio [relación enzima: proteína de 1:67 (p:p)]. Después de la incubación con pepsina (120 min), un tampón fosfato salino (PBS) 0.2 M, pH 8.0 fue agregado (relación 1:1, v:v) con el medio de incubación. La pancreática fue agregada [relación enzima: proteína de 1:30 (p:p)] rápidamente al medio de incubación durante 240 min (4 h).

3.5.3 Toma de muestras y lectura

Una alícuota (75 µl) fue tomada en los tiempos 0, 30, 120, 140, 240 y 360 después de la incubación con pepsina y pancreatina. Cada alícuota se tomó para la determinación de los grupos aminos libres (NH₂) usando el método del o-phthaldialdehyde (OPA) (Church et al., 1983). Cada alícuota fue mezclada inmediatamente con la solución de OPA, y la densidad óptica se midió a los 2 minutos en el espectrofotómetro a 340 nm. El grado de la hidrólisis (OPA) fue calculado como la relación entre los grupos aminos libres (NH₂) y el total de grupos aminos de la muestra.

3.5.4 Cálculos específicos

Grado de Hidrólisis de las proteínas (GH%). El GH fue calculado según las siguientes ecuaciones:

$$\%GH = ([NH_2 (TX)] - [NH_2 (T0)]) \times 100 / ([NH_2 (Total)] - [NH_2 (T0)])$$

Donde $NH_2 (TX)$ son los grupos aminos libre (NH_2) en el tiempo X de la cinética; El $NH_2 (T0)$ son los NH_2 en el tiempo 0; y $NH_2 (total)$ son los NH_2 total de cada dieta.

3.5.5 Diseño experimental

Los diseños experimentales fueron los mismos que se usaron en cada una de las fases *in vivo*. La única diferencia, es que se hizo un análisis por separado al final de la etapa de pepsina (120 min) y al final de pancreática (360 min). Además, se hizo un análisis de correlación entre los resultados obtenidos *in vivo* e *in vitro*.

3.6 FASE III. Prueba de crecimiento y retención proteica

3.6.1 Animales

Treinta ratas con un peso corporal promedio de 50 ± 4.2 g, fueron utilizadas. Los animales fueron asignados al azar y puestos individualmente en una jaula metabólica.

3.6.2 Dietas experimentales

Para la prueba de crecimiento y retención proteica se seleccionaron algunos de los tratamientos de la Fase II, de acuerdo a su digestibilidad verdadera a nivel ileal (sin diferencia estadística entre las fuentes de proteína). Por consiguiente, las dietas fueron balanceadas con 10% de proteína digestible a nivel ileal (Tabla 19). Las dietas empleadas fueron dos controles (caseína y torta de soya, como fuente de proteína). Dietas con 50% de inclusión de la proteína del caupí crudo y con tratamientos 5 y 20 min de ebullición. Finalmente, una dieta con 100% proteína aportada por caupí con 5 min de ebullición. Cada dieta fue suplementada con DL-metionina (30 g/kg de la proteína) por su déficit en este aminoácido. Una dieta suplementaria sin proteína fue utilizada durante 14 días (los últimos cinco días fueron de recolección de heces y orina), para la determinación de las pérdidas endógenas de N.

Tabla 19. Composición y contenido nutricional de las dietas experimentales (Fase III) para prueba de crecimiento y retención proteica con caupí crudo y con tratamientos térmicos en ratas.

Nivel %	Control ¹		Caupí			
	Caseína	Soya	Crudo	Cocción		
				5min	5min	20min
			50	50	100	50
<i>Ingredientes (g/kg MS)</i>						
Caseína	117	-	-	-	-	-
T. Soya	-	216	108	108	-	108
Caupí	-	-	365	219	438	228
Cascarilla	149	117	15	167	7	146
Almidón	441	374	219	213	262	225
Metionina	3	3	3	3	3	3
Otros ²	290	290	290	290	290	290
<i>Composición (g/kg MS)</i>						
Proteína	110	102	134	109	116	102
EE	107	106	110	105	109	116
Cenizas	61	65	48	44	46	47
FDN	93	141	99	115	188	194
Energía bruta (Kcal/kg)	3998	3486	3967	3452	3785	3896

¹ Dietas control (caseína, T. de soya), tratamientos térmicos con dos niveles de sustitución para 5 min (50 y 100%) y 50% para caupí crudo y 20 min.

² Aceite 100 g/kg; Azúcar 100 g/kg; vitaminas y minerales 40 g/kg (oligoelementos 10 g/kg; CaPO₄ 14 g/kg; CaCO₃ 3 g/kg; NaCl 1.5 g/kg; KCl 7 g/kg; MgSO₄ 1.5 g/kg; Cr₂O₃ 3 g/kg.)

3.6.3 Periodo experimental

3.6.3.1 Prueba de crecimiento

Las ratas fueron puestas en jaulas individuales por un periodo de 30 días, los dos primeros fueron de adaptación a las jaulas y a las dietas experimentales. El suministro de alimento fue del 15% del PV del animal y agua a voluntad. Se tomaron pesos corporales al inicio de la prueba (peso inicial) y cada 7 días hasta el final del experimento. Las cantidades de alimento fueron ajustadas a los nuevos pesos corporales (15%). Diariamente fue pesado tanto el alimento ofrecido y el residuo.

3.6.3.2 Retención proteica

La prueba de retención proteica fue realizada durante los últimos 5 días de la prueba de crecimiento. Tiempo en el que las heces y la orina fueron recolectadas en su totalidad y congeladas por separado a -20° C. La orina fue recolectada con ácido sulfúrico (1%), para limitar la volatilización del N amoniacal.

3.6.3.3 Sacrificio de animales y recolección de contenido ileal

Los animales fueron sometidos a un ayuno de un día. Al día siguiente, se les suministro alimento tres horas antes del sacrificio. Estos fueron eutanasiados y el contenido ileal fue recolectado como se describe más arriba.

3.6.3.4 Cálculos específicos

Para la prueba de crecimiento las variables estudiadas fueron calculadas con las siguientes ecuaciones:

$$\text{Relación eficiencia proteica (PER)} = GP / Pi$$

$$\text{Ajustado PER} = \text{PER la proteína testigo} / \text{PER control caseína}$$

$$\text{Relación Proteína Neta (NPR)} = (WG + PP) / Pi$$

Donde GP es la ganancia de peso corporal; Pi es la cantidad de proteína ingerida; PP es la pérdida de peso, obtenido de las ratas alimentadas con la dieta sin proteína y WG es la ganancia de peso en 5 días (Wu *et al*, 1996; Nielsen, 1998).

Para la prueba de la retención de N, las variables a estudiar fueron calculadas con las siguientes ecuaciones:

$$\text{Balance N} = Ni - (Nf + No)$$

$$\text{Valor Biológico (BV)} = Ni - [(Nf - Nfe) + (No - Noe)] / Ni - (Nf - Nfe)$$

$$\text{Utilización de Proteína Neta (NPU)} = [Ni - (Nf + No)] \times 100 / Ni$$

Donde Ni es el N ingerido; El Nf es el N fecal; No es N de la orina; Nfe y Noe es el N endógeno en heces y orina respectivamente, de los animales alimentados con la dieta sin proteína (Nielsen, 1998).

3.6.3.5 Diseño experimental

Se utilizó un diseño completamente al azar, con seis tratamientos, dos tratamientos control (torta de soya, caseína), dos tratamientos térmicos (ebullición 5 y 20 min) y crudo con un nivel de sustitución del 50%. Además, ebullición 5 min con un nivel de sustitución del 100%. Seis repeticiones por tratamiento para un total de 30 unidades experimentales. Para analizar la curva de crecimiento se realizó un análisis de medidas repetidas en el tiempo.

Modelo estadístico

$$Y_{ij} = \mu + T_j + N_k + E_{jk}$$

Donde:

μ = Media general

T_j = Efecto del tratamiento térmico j

N_k = Efecto del nivel de sustitución k

E_{ij} = Efecto del error experimental jk

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

FASE I. Niveles de caupí crudo en las dietas

4.1 Digestibilidad fecal e ileal

4.1.1 Digestibilidad de la materia seca (MS), la materia orgánica (MO) y la energía.

El consumo de alimento no fue afectado por el nivel de inclusión de la proteína del caupí crudo ($P > 0.05$) (Tabla 20).

La digestibilidad fecal de la MS aumentó linealmente a medida que el nivel de la proteína del caupí incremento en la dieta ($P < 0.05$). Por el contrario, la digestibilidad ileal de la MS disminuyó linealmente ($P < 0.001$). Esta diferencia podría ser causada por la fermentación bacteriana que ocurre en el ciego y en el colon de los nutrientes que escapan sin ser digeridos en el intestino delgado (Montoya, 2007). En cerdos en crecimiento alimentados con diferentes niveles de caupí en reemplazo de harina de soya (0, 10, 20 y 30% de la proteína) la digestibilidad de la MS fecal aparente disminuyo a medida que el caupí aumentó en las dietas (80, 77, 79 y 71%, respectivamente) (Castro et al., 2001). La digestibilidad de la MO y la energía no fue afectada por el nivel de la proteína del caupí en la dieta ($P > 0.05$). El contenido de energía digestible disminuyó linealmente a medida que aumentó el nivel de la proteína de caupí en la dieta ($P < 0.001$). Sin embargo, estos resultados demuestran que el grano de caupí puede también ser una fuente importante de energía (3935 Kcal/kg MS, Tabla 17), gracias a su alto contenido en carbohidratos (53.7% para *Vigna unguiculata*, accesión 9611).

Díaz et al. (1999) encontraron en cerdos alimentados con dos niveles de inclusión (20 y 40% de la proteína) de grano crudo de *Cajanus cajan*, valores de digestibilidad fecal de 89 y 86% para la MS y de 90 y 88% para MO, respectivamente.

4.1.2 Digestibilidad aparente y verdadera del nitrógeno (N).

La digestibilidad aparente y verdadera del N a nivel fecal e ileal disminuyó linealmente a medida que la proteína de la dieta control fue reemplazada por proteína del caupí ($P < 0.001$) (Tabla 20, Figura 1). Aguirre et al. (2002) encontraron valores de

digestibilidad aparente fecal del N en ratas alimentadas con caupí crudo en reemplazo de torta de soya con diferentes niveles (0, 20, 40, 60, 80 y 100%) de 81, 75, 73, 74, 72, y 72%, respectivamente. Este mismo autor considera satisfactoria la calidad de la proteína del caupí crudo.

Los resultados de este ensayo pueden estar influenciados por: a) La baja digestibilidad de las proteínas de las leguminosas en estado crudo. Las principales proteínas en las semillas del caupí son las globulinas y las albuminas (51 y 45%; respectivamente; Freitas et al., 2004), las cuales se caracterizan por ser resistentes a las enzimas proteolíticas. b) La presencia de factores antinutricionales contenidos en el grano de caupí como los inhibidores de proteasas y las lectinas que afectan la hidrólisis enzimática de la proteína en el intestino delgado y al mismo tiempo dan lugar a una serie de alteraciones fisiológicas (Rubio y Brenes, 1995). En el caupí, el mayor efecto pudo ser causado por los inhibidores de proteasas, el aumento de estos en el nivel de las dietas conlleva a una disminución en la digestibilidad de la MS, N y aminoácidos (Gómez, 2006). El contenido de inhibidores de tripsina en leguminosas en general es de 1.28-14.6 TIU/mg (Castro et al., 2001). En otro estudio con la misma accesión de *Vigna unguiculata* 9611 del CIAT, se encontró un contenido de 0.22 TIU/mg (Quintero, 2006). Estos no solamente inhiben la hidrólisis de las proteínas de las dietas por parte de las proteasas (tripsina y quimotripsina), sino que aumentan las pérdidas de N endógeno al aumentar las secreciones pancreáticas (Leterme., 2002; Maia et al., 2000). c) Las lectinas debido a su resistencia al ataque proteolítico de las enzimas en el intestino, son perjudiciales para la salud de la rata, deteriorando y alterando principalmente el intestino delgado (Maia et al., 2000).

En un estudio en ratas se evaluó el efecto del consumo de *Vigna unguiculata* grano crudo como sustituto de torta de soya (0, 20, 40, 60, 80 y 100%), sobre el rendimiento en los índices de proteínas en sangre y se concluyó que se puede utilizar hasta un 60% sin afectar los principales índices (hemoglobina, hematocritos, concentración sérica de albumina, colesterol, etc.) Aguirre et al. (2003).

Similares valores de digestibilidades fecal aparente y verdadera fueron encontrados en cerdos alimentados con *Cajanus cajan* crudo (78 y 71%) (Díaz et al., 1999). Sin embargo, en ratas valores más bajos fueron reportados (52%; Campabadal et al., 1978). A nivel ileal, el valor de digestibilidad aparente en cerdos fue de 67% (Díaz et al.,

1999). Castro et al. (2001) encontraron en cerdos alimentados con caupí en reemplazo de harina de soya (0, 10, 20 y 30% de la proteína) digestibilidades fecales aparentes de N del 81, 76, 79 y 68%, respectivamente. Echeverría et al. (2005) reportaron que niveles de inclusión del 30% de caupí crudo en reemplazo de torta de soya en dietas para cerdos en crecimiento presentan una digestibilidad fecal del N del 86%, valores cercanos a los encontrados en el presente trabajo con 33% de inclusión del caupí crudo (79%).

Tabla 20. Consumo y valores de digestibilidad fecal e ileal en ratas alimentadas con diferentes niveles de inclusión de proteína del grano de caupí.

	Nivel de caupí (%) ¹				DS ²	Contraste ³	P
	0	33	67	100			
Consumo (g/día)	12.5	13.1	12.3	12.8	0.3	ns	0.530
<i>Digestibilidad Fecal (%)</i>							
Materia seca	83 ^b	85 ^a	86 ^a	86 ^a	1	L	0.014
Materia orgánica	87	88	88	88	1	ns	0.205
Energía	88	89	88	87	1	ns	0.399
Aparente N	88 ^a	79 ^b	68 ^c	56 ^d	14	L	0.001
Verdadera N	96 ^a	89 ^b	76 ^c	65 ^d	14	L	0.001
ED (Kcal/kg) ⁴	3521 ^a	3528 ^a	3449 ^{ab}	3408 ^b	50	L	0.022
<i>Digestibilidad ileal (%)</i>							
Materia Seca	85 ^a	83 ^a	78 ^b	77 ^b	4	L	0.002
Aparente N	78 ^a	57 ^b	38 ^c	39 ^c	19	L	0.001
Verdadera N	84 ^a	63 ^b	44 ^c	44 ^c	19	L	0.001

¹ Dieta: 0, control; 33, 67 y 100 % niveles de reemplazo de la caseína por la proteína del caupí

² DS, desviación estándar

³ Efecto lineal (L) de niveles de inclusión de proteína del caupí en las dietas; ns, no significativo.

⁴ ED, energía digestible

^{abc} Filas con diferentes letras difieren significativamente a $P < 0.05$; ns, no significativo; DS, desviación estándar.

Los valores de digestibilidad del N a nivel fecal estuvieron altamente correlacionados con los valores de digestibilidad a nivel ileal ($r^2 = 0.94$; $P < 0.001$). Es decir que los valores de digestibilidad ileal podrían ser determinados a partir de los valores de digestibilidad fecal o viceversa. Sin embargo, como la proteína es digerida y

absorbida solamente hasta el final del intestino delgado (íleon) (Leterme, 2002), en estudios de la calidad nutricional (ej. disponibilidad de los aminoácidos) de la proteína, los valores a nivel ileal son los más indicados.

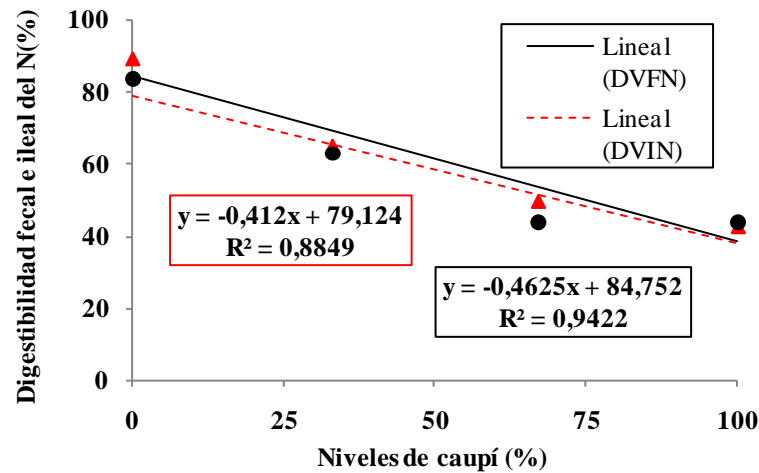


Figura 1. Relación de la digestibilidad verdadera fecal del N (DVFN) e ileal (DVIN) con niveles crecientes de N del grano de caupí en dietas balanceadas.

4.1.3 Cinética de hidrólisis *in vitro* de la proteína de las dietas experimentales

La cinética de hidrólisis enzimática de las proteínas de las dietas experimentales utilizadas en esta fase se ilustra en la Figura 2. No se presentaron diferencias en el grado de hidrólisis en la etapa de pepsina (30 y 120 min) entre las dietas ($P > 0.05$). Los valores alcanzados fueron 19, 18, 15 y 18% para la dieta control, caupí con nivel del 33, 67 y 100%, respectivamente. Diferencias en el grado de hidrólisis fueron observadas después de la inclusión de la pancreatina ($P < 0.01$). A los 140 min (120 de pepsina + 20 min de pancreatina) se empezaron a notar diferencias entre las dietas. A los 360 min de hidrólisis, la dieta control caseína fue la más hidrolizada (89%), en comparación con las demás dietas (65, 50 y 43% para caupí 33, 67 y 100%, respectivamente).

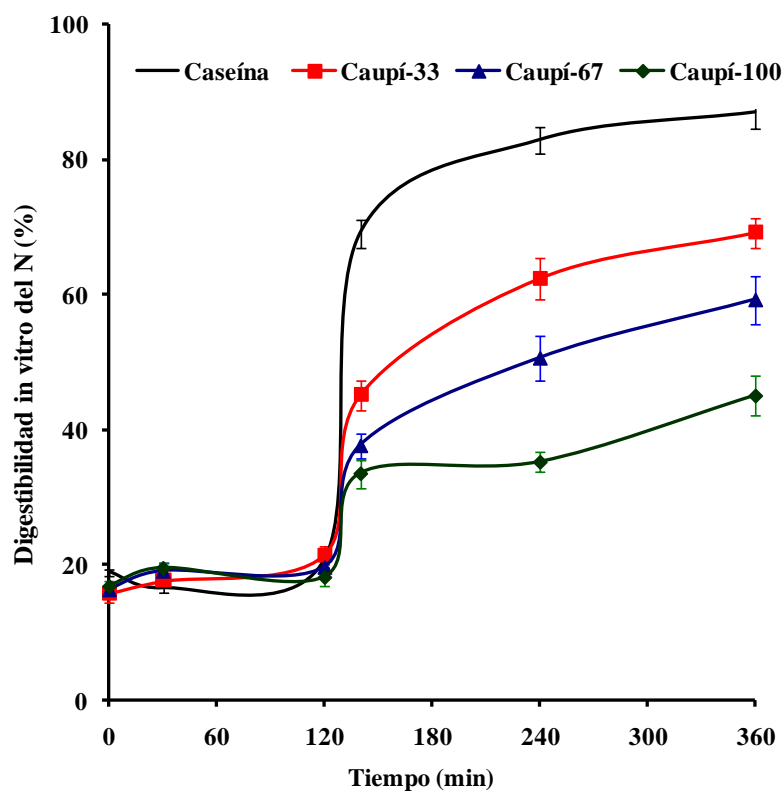


Figura 2. Cinética de hidrólisis *in vitro* de la proteína de las dietas experimentales con los diferentes niveles de incorporación de proteína del grano de caupí.

Los valores de la hidrólisis *in vitro* fueron superiores a los hallados en la digestibilidad *in vivo*. Sin embargo, estos fueron altamente correlacionados ($r = 0.98$; Tabla 21). Arteaga y Ortiz (1989) encontraron resultados similares para la digestibilidad *in vitro* e *in vivo* de la caseína de 90 y 88%, respectivamente. El valor de hidrólisis del caupí solo, fue similar a los resultados encontrados *in vivo* e *in vitro* en la dieta con 100% de inclusión del caupí (47, 44 y 43%, respectivamente: Tabla 21).

El valor hallado en la digestibilidad *in vitro* (89%) para la dieta control fue bajo respecto a los valores reportados previamente del 98%, usando el mismo método (pepsina/pancreatina) Dierick et al. (1985) citado por Gonzalvo et al. (2001). Zamora (2003) usando el método de pepsina/pancreatina encontró para caseína y para harina cruda de canavalia (*Canavalia ensiformes*) una digestibilidad *in vitro* del 98y 57%, respectivamente.

Tabla 21. Comparación de la digestibilidad *in vitro* e *in vivo* de la proteína de las dietas experimentales con los diferentes niveles de inclusión del grano de caupí.

Dietas	Digestibilidad (%)	
	<i>In vitro</i>	<i>In vivo</i> ¹
<i>Nivel de incorporación (%)</i>		
Caupí 0	89.1	83.5
Caupí 33	65.0	62.8
Caupí 67	49.7	43.8
Caupí 100	42.7 (47 ²)	44.0
R = 0.978		

¹ Digestibilidad ileal verdadera

² Digestibilidad *in vitro* del N de la leguminosa sola

4.1.4 Efecto del nivel de inclusión del caupí sobre el TGI de las ratas

El efecto de los niveles crecientes de la proteína del caupí crudo sobre el tracto gastrointestinal de las ratas (peso, longitud y contenido) es mostrado en la Tabla 22. El contenido y el peso vacío de los diferentes compartimientos (con excepción del estómago) aumentaron de manera lineal o cuadrática a medida que el nivel de inclusión de caupí aumentaba en la dieta ($P < 0.001$). El pH en el estómago aumentó de manera cuadrática, mientras que en el ciego disminuyó linealmente cuando los niveles de caupí en la dieta aumentaron ($P < 0.001$). De igual manera, la longitud del intestino delgado (ID) disminuyó cuadráticamente y la del colon aumentó linealmente ($P < 0.001$). Se observaron cambios en la anatomía de las ratas alimentadas con los diferentes niveles. Los efectos del caupí en ratas parece ser debido principalmente a las acciones combinadas de las globulinas, almidones resistentes, inhibidores de la proteasa y posiblemente los polisacáridos no almidonados sobre el intestino y el sistema metabólico (Olivera et al., 2003).

En un estudio realizado con cerdos destetos alimentados con caupí crudo en reemplazo de soya con diferentes niveles (0, 25, 50, 75 y 100%), encontraron que altos niveles de inclusión producen en la mucosa del intestino delgado cambios en el largo de las vellosidades y la profundidad de las criptas, que a su vez causa una mala absorción y una alta fermentación de los carbohidratos. Estos cambios en la morfología del intestino

delgado pueden ser debido a una respuesta de hipersensibilidad inducida por factores antinutricionales de las dietas con caupí crudo (Li et al., 1981; Makinde y Umaphaty, 1996).

El consumo de niveles altos de caupí crudo afectó el peso del ciego y el ID. Esto puede ser atribuido a: a) un mayor volumen de MS del alimento en el ID, ciego y colon (Gómez, 2006), como fue encontrado con una menor digestibilidad de la MS a nivel ileal. b) La presencia de factores antinutricionales pueden tener un efecto negativo sobre la anatomía del TGI, afectando la digestión o la biodisponibilidad de otros componentes dietéticos, o puede tener efectos debilitantes sobre el metabolismo en el intestino y tejidos asociados (Olivera et al., 2003). La alimentación con caupí crudo puede causar reducción del crecimiento y cambios histomorfométricos en los diferentes segmentos del intestino delgado (Umaphaty et al., 1999). c) Las globulinas del caupí que pueden estimular un aumento en la secreción y síntesis de mucina por células caliciformes (Olivera et al., 2003). Aumentando las pérdidas endógenas específicas de estas proteínas a medida que el nivel de inclusión del caupí aumentó en la dieta.

Un aumento de peso en los diferentes compartimentos no es adecuado ya que estos deben estar cerca a los pesos de las ratas alimentadas con la dieta control, posiblemente puede haber una mayor utilización de proteína por parte del animal para tratar de reponer la mucosa del intestino delgado. Pero igualmente este aumento de peso puede ser causado por una super excreción de la mucosa.

Erlwanger et al. (1999) realizaron un estudio donde analizaron el efecto de sustitución del 75% de harina de soya por caupí crudo con tratamiento térmico, en cerdos recién destetos y encontraron que los efectos del caupí en la dieta se han visto principalmente en la parte proximal del intestino delgado (yeyuno).

Tabla 22. Efecto de los diferentes niveles de inclusión de la proteína del grano de caupí sobre el tracto gastrointestinal de las ratas.

	Nivel de caupí (%) ¹				DS ²	Contraste ³	P
	0	33	67	100			
<i>Estomago</i>							
Peso vacío (g)	1.4 ^a	1.2 ^b	1.2 ^b	1.1 ^c	0.1	L	0.001
Contenido (g)	9.5 ^a	9.2 ^{ab}	8.1 ^c	9.3 ^{ab}	0.6	Q	0.001
pH	4.1 ^b	3.9 ^c	4.1 ^b	4.4 ^a	0.2	Q	0.001
<i>Intestino delgado</i>							
Peso vacío (g)	3.3 ^d	3.4 ^b	3.4 ^c	3.6 ^a	0.1	L	0.001
Contenido (g)	3.5 ^b	4.5 ^{ab}	4.7 ^{ab}	5.3 ^a	0.7	L	0.001
Longitud (cm)	97 ^a	94 ^c	97 ^a	96 ^b	1.4	C	0.001
<i>Ciego</i>							
Peso vacío (g)	0.7 ^b	0.7 ^c	0.7 ^b	0.8 ^a	0.1	L	0.001
Contenido (g)	1.7 ^b	1.3 ^c	1.6 ^b	2.1 ^a	0.3	Q	0.001
pH	7.0 ^a	7.0 ^a	6.9 ^b	6.7 ^c	0.1	L	0.001
<i>Colon</i>							
Peso vacío (g)	1.1 ^b	0.9 ^c	1.1 ^a	1.1 ^a	0.1	Q	0.001
Contenido (g)	1.7 ^{ab}	1.5 ^c	1.7 ^b	1.8 ^a	0.1	Q	0.002
Longitud (cm)	11.6 ^b	11.6 ^b	12.3 ^a	12.3 ^a	0.4	L	0.032

¹ Dieta: 0, control; 33, 67 y 100% niveles de reemplazo de la caseína por la proteína del caupí

² DS: desviación estándar

³ Efecto lineal (L), cuadrático (Q) y cúbico (C) de niveles de inclusión de proteína del caupí en las dietas.

^{abc} Filas con diferentes letras difieren significativamente a $P < 0.05$; ns, no significativo ($P > 0.05$).

FASE II. Tratamientos térmicos y niveles de caupí en las dietas

4.2 Digestibilidad fecal e ileal

4.2.1 Digestibilidad de la materia seca (MS), la materia orgánica (MO) y la energía.

El consumo de alimento se vio afectado por el tipo de dieta ($P < 0.05$; Tabla 23). El consumo más bajo se presentó en las ratas alimentadas con caseína y caupí con tratamiento de autoclave y crudo con un nivel de inclusión del 50%. Los más altos consumos se presentaron para las dietas torta de soya, caupí con cocción de 5 min, autoclave y crudo con nivel del 100%.

Cuando todas las dietas fueron comparadas, los valores de digestibilidad fecal de la MS, MO y energía fueron más altas para las dietas que contenían caupí ($P < 0.001$; Tabla 23). En general, los valores más bajos de digestibilidad fueron para las dietas controles (torta de soya y caseína) y crudo 100% ($P < 0.001$). Esto explica los más bajos valores de energía digestible encontrados para estas dietas ($P < 0.001$), con la excepción del control-caseína, influenciada por una mayor cantidad de energía de la dieta (Tabla 18). Para el análisis estadístico del efecto del tratamiento térmico y el nivel, diferencias en la interacción fueron encontradas para la digestibilidad de la energía y energía digestible ($P = 0.007$ y $P < 0.001$, respectivamente). El valor más bajos fue para la dieta caupí crudo 100%. La digestibilidad de la MS y de la MO aumento a medida que el nivel de caupí se incremento en la dieta ($P < 0.001$).

A nivel ileal, el análisis de todas las dietas mostró diferencias significativas para la digestibilidad de la MS ($P = 0.003$). Los valores más bajos fueron encontrados en las ratas que consumieron caupí crudo (ambos niveles) y caupí cocido 20 min 100% de inclusión. Las demás dietas con caupí, presentaron los mismos valores que las dietas control ($P > 0.05$).

Gómez (2006) encontró en ratas alimentadas con dietas de frijol autoclavado por 20 min, digestibilidades fecales menores para MS y energía (80 y 82%, respectivamente). León et al. (1993) encontraron digestibilidades fecales de MS para niveles de 50 y 100% de caupí crudo de 68 y 55% y de *Cajanus cajan* crudo de 67 y 52%. Para guandul tratado térmicamente (ebullición por 60 min), las digestibilidades fecales de MS para dietas con dos niveles de inclusión (50 y 100%) en reemplazo de la harina de soya fueron de 85 y 75%, respectivamente (Li et al., 1981). Granos tostados de *Canavalia ensiformes* presentaron digestibilidades aparente de MS a nivel fecal e ileal del 74 y 46%, respectivamente. El contenido de energía para la canavalia fue de 3146 Kcal/kg (Michelangeli et al., 2004b).

4.2.2. Digestibilidad aparente y verdadera del nitrógeno (N).

Cuando se compararon todas las dietas, diferencias significativas fueron encontradas para la digestibilidad aparente y verdadera del N a nivel ileal ($P < 0.001$). En general las dietas con 100% de inclusión de caupí, presentaron los valores más bajos, con la excepción del caupí 5 min cocción a nivel ileal. Para la interacción tratamiento térmico

y nivel la digestibilidad aparente y verdadera del N a nivel fecal e ileal presentaron diferencias significativas ($P < 0.05$). A nivel fecal, los valores más bajos fueron los encontrados para la dieta con 100% de inclusión de caupí crudo.

Resultados similares de digestibilidad fecal aparente de N en caupí crudo (81 y 77%) fueron reportados en aves alimentadas con dos niveles de sustitución de la proteína de la dieta (50 y 100%, respectivamente) (León et al., 1993). Cárdenas et al. (2000) encontraron valores promedio inferiores para digestibilidad fecal aparente de N del 69% de 4 variedades mejoradas de frijol con tratamiento de cocción. Valores superiores de digestibilidad fecal de N para torta de soya han sido reportados previamente (90 al 96%; Huisman et al., 1985, citado por Jondreville y Gálvez, 1995; Gonsalvo et al., 2001). En guandul tratado térmicamente (ebullición por 60 min), valores de digestibilidades fecales aparentes del 64 y 49% fueron encontrados en ratas alimentadas con dos niveles de inclusión de la proteína de la dieta (50 y 100%, respectivamente; Li et al., 1981).

A nivel ileal, las dietas con caupí crudo y autoclavado 100% presentaron los valores más bajos de digestibilidad. Para las demás dietas (todas 50% de inclusión, cocción 5 y 20 min con 100% de inclusión) no se presentó diferencia significativa ($P > 0.05$). Huisman et al. (1985), citado por Jondreville y Gálvez (1995) reportaron valores similares de digestibilidades para torta de soya a nivel ileal del 83%. Y Michelangeli et al. (2004b) encontraron con granos tostados de *Canavalia ensiformes* digestibilidades aparente fecal e ileal muy bajas (42 y 31%).

Los valores de la digestibilidad del N a nivel fecal muestran en la figura 3, una correlación media con los valores de digestibilidad a nivel ileal ($r^2 = 0.67$; $P < 0.001$). Sin embargo, una gran diferencia fue encontrada para las dietas caupí crudo. Esta diferencia puede deberse: a) factores anteriormente mencionados en la fase I cuando se utiliza caupí crudo; como son: -la resistencia de las proteínas a la proteólisis de las enzimas digestivas que contribuye a la disminución de su valor nutritivo cuando no son tratadas con calor (Brenes y Brenes, 1993), -la presencia de factores inhibidores de proteasas en el grano. b) posiblemente a una fermentación bacteriana en el intestino grueso de la proteína que escapó sin ser digerida del intestino delgado (Jondreville y Gálvez, 1995).

De acuerdo a los resultados encontrados, el tratamiento térmico mejoró la digestibilidad de la proteína del caupí, algunos autores informan que los valores más

comúnmente descritos para la calidad de la proteína, están entre el 80 y 90% de digestibilidad. Estos resultados pueden deberse: a) a la desnaturalización de su estructura tridimensional de las proteínas (Kakade, 1974 citado por Rubio y Brenes, 1995). b) a la desnaturalización de las proteínas por tratamiento térmico húmedo, principalmente a las albúminas, sin afectar las globulinas. Esta desnaturalización incrementa la accesibilidad de las enzimas a dichas proteínas (Enwere et al., 1998, citado por Granito et al., 2004); c) a la inactivación por un tratamiento térmico adecuado de los inhibidores de tripsina y lectinas (Maia et al., 2000). Se ha señalado que el tratamiento con calor no afecta de manera uniforme a todos los aminoácidos y pareciera que la lisina y los aminoácidos azufrados son los más susceptibles (D'Mello et al., 1993; Michelangeli et al., 2004).

Aumentos del contenido de FDN en la dietas resultan en pérdidas mayores de N, tanto de origen endógeno como exógeno, causando disminución en la digestibilidad ileal aparente del N y de los aminoácidos (Lenis et al., 1996, citado por Michelangeli et al., 2004). Esto puede explicar la más baja digestibilidad de la proteína con las dietas con niveles de inclusión del 100%. Aunque las dietas presentaron contenidos similares de FDN, la fibra proveniente del caupí fue más alta para estas dietas. Es decir, que estas dietas (100% de la proteína del caupí) tienen mayor contenido celular dentro de sus paredes celulares y el efecto de suplementar con cascarilla, radica más en balancear las dietas.

Tabla 23. Valores de digestibilidad fecal e ileal en ratas alimentadas con diferentes niveles de inclusión y tipos de tratamientos térmicos de proteína del grano de caupí.

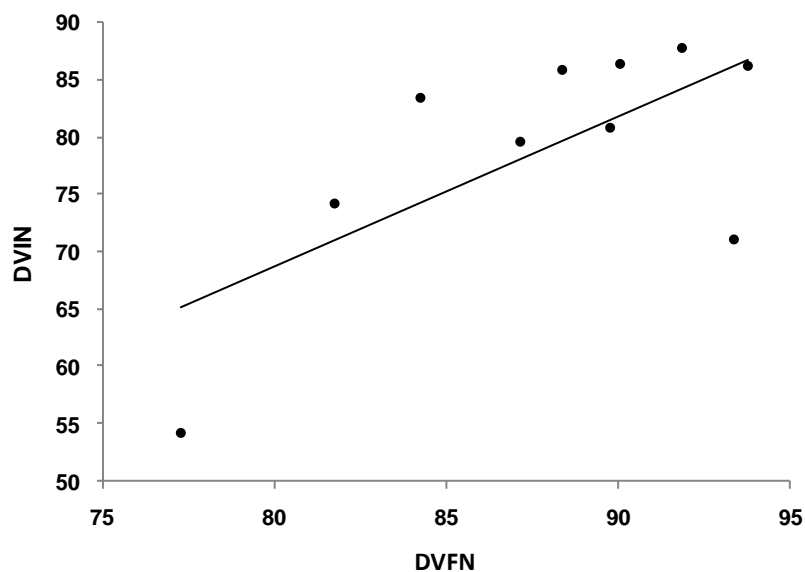
Dieta	Control ¹		Caupí ¹								DS	P ²	P ³		
	Caseína	Soya	Cocción 5'		Cocción 20'		Aut. 20 min		Crudo				Tto	Nivel	T*N
Nivel (%)	0		50	100	50	100	50	100	50	100					
Cons. g/día ⁴	9,5 ^b	11,3 ^a	10,1 ^{ab}	11 ^a	10,1 ^{ab}	10,2 ^{ab}	9,7 ^b	11,4 ^a	9,8 ^b	11 ^a	0.7	0.043			
<i>Digestibilidad fecal (%)</i>															
Materia seca	82 ^b	81 ^b	88 ^a	89 ^a	87 ^a	89 ^a	88 ^a	89 ^a	88 ^a	88 ^a	2.9	0.001	0.981	0.001	0.864
Materia organica	85 ^b	84 ^b	90 ^a	91 ^a	82 ^b	91 ^a	89 ^a	91 ^a	90 ^a	90 ^a	3.3	0.001	0.963	0.001	0.864
Energía	87 ^c	83 ^e	89 ^{abc,uvw}	90 ^{ab,uv}	88 ^{abc,uvw}	90 ^{ab,uv}	87 ^{bc,vw}	91 ^{a,u}	90 ^{ab,uv}	86 ^{d,x}	2.4	0.001	0.311	0.001	0.007
Aparente N	85 ^a	80 ^{ab}	83 ^{ab,uv}	74 ^{cd,wx}	81 ^{ab,uv}	78 ^{bc,vw}	81 ^{ab,uv}	72 ^{de,yz}	85 ^{a,u}	68 ^{e,y}	5.7	0.001	0.114	0.001	0.002
Verdadera N	94 ^a	88 ^{bcd}	92 ^{abc,uvw}	84 ^{de,xy}	90 ^{abc,uvw}	87 ^{cd,wx}	90 ^{abc,uvw}	82 ^{ef,yz}	93 ^{ab,uv}	77 ^{f,z}	5.4	0.001	0.145	0.001	0.003
ED(Kcal/kg)	3554 ^a	2907 ^e	3339 ^{c,w}	3685 ^{a,u}	3082 ^{d,x}	3689 ^{a,u}	3474 ^{b,v}	3629 ^{a,u}	3560 ^{b,v}	2707 ^{f,z}	330	0.001	0.001	0.019	0.001
<i>Digestibilidad ileal (%)</i>															
Materia seca	82 ^a	80 ^{ab}	80 ^{ab}	79 ^{ab}	77 ^{ab}	73 ^{bc}	77 ^{ab}	75 ^{ab}	66 ^c	72 ^{bc}	4.8	0.003	0.002	0.178	0.278
Aparente N	85 ^{ab}	84 ^{ab}	86 ^{a,u}	82 ^{ab,uv}	85 ^{ab,uv}	78 ^{bc,vw}	79 ^{ab,uv}	72 ^{cd,wx}	69 ^{d,x}	53 ^{e,y}	10	0.001	0.001	0.001	0.033
Verdadera N	86 ^{ab}	86 ^{ab}	88 ^{a,u}	83 ^{ab,uv}	86 ^{ab,uv}	79 ^{bc,vw}	81 ^{abc,uvw}	74 ^{cd,wx}	71 ^{d,x}	54 ^{e,y}	10	0.001	0.001	0.001	0.034

¹ Dietas control (caseína y soya), caupí crudo y tratamientos térmicos con dos niveles de inclusión (50 y 100%).

² Análisis estadístico I incluyendo todas las dietas. ^{abc} Filas con diferentes letras difieren significativamente a P < 0.05; DS, desviación estándar.

³ Análisis II, en este análisis no se tuvo en cuenta las ratas alimentadas con los controles caseína y soya. Por consiguiente, se hizo un arreglo factorial (4*2), cuatro tratamientos térmicos y dos niveles de inclusión. Tto, tratamiento térmico; Nivel de sustitución; T*N, interacción (tratamiento x nivel). ^{wxy} Filas con diferentes letras difieren significativamente a P < 0.05.

⁴ Consumo de alimento (g/día); ED, energía digestible.



$$R^2 = 67.82\%$$

Figura 3. Relación de la digestibilidad verdadera fecal e ileal del N con diferentes niveles y tratamientos térmicos de la proteína del grano de caupí.

4.2.3 Cinética de hidrólisis *in vitro* de la proteína de las dietas experimentales

La cinética de hidrólisis enzimática realizada a las dietas con tratamientos térmicos se ilustra en la Figura 4. Diferencias en el grado de hidrólisis fueron observadas desde la etapa de pepsina ($P < 0.01$). Al final de la hidrólisis de pepsina (120 min) se encontraron diferencias significativas ($P < 0.001$; datos no mostrados), donde caseína presentó el valor más alto 28%. Después de la inclusión de pancreatina la hidrólisis tuvo un incremento marcado que se mantuvo hasta el final de la hidrólisis (360 min), la mayor hidrólisis fue para la dieta control caseína (84%; $P < 0.001$) en comparación con las demás dietas que tuvieron digestibilidades bajas como autoclave 50% (57%), caupí 5'50% (57%), caupí 20'50% (56%), caupí crudo 50 y 100% (58 y 51%). El valor de hidrólisis del caupí solo (47%; Tabla 24), fue similar a los resultados encontrados en *in vivo* e *in vitro* en la dieta con 100% de inclusión del caupí (54, 51% respectivamente). Se ha reportado que las globulinas principal fracción proteica del caupí son resistentes a la hidrólisis *in vitro* por enzimas aisladas, como es el caso de la pepsina, ya que en un estudio se observó que las globulinas de granos de caupí mostraron una débil hidrólisis

a las 4h a una temperatura de 37°C por SDS-PAGE (Araújo et al., 2002), sin embargo la hidrólisis se incrementa con la cocción (Araújo et al., 2002; Lima et al., 2004).

El valor de digestibilidad *in vitro* de la torta de soya de este trabajo fue similar al hallado por Saleh et al., (2003) del 70%.

El grado de hidrólisis de la mayoría de las dietas con excepción del control caseína, fueron más bajos que los valores de digestibilidad ileal. Según Montoya (2007), estas diferencias encontradas en *in vitro*, pueden ser causadas por: a) la hidrólisis *in vitro* solo simula hasta la digestión ileal. b) un tiempo de hidrólisis *in vitro* relativamente largo (4 a 6 h). c) en las digestiones *in vivo* hay interacciones con otros constituyentes alimentarios. Sin embargo, Boisen y Fernández (1995) encontraron digestibilidades *in vitro* e *in vivo* en cerdos para harina de soya de 93 y 78%, respectivamente.

Una digestibilidad *in vitro* de la proteína del 57% con harina integral de *Vigna unguiculata* (variedad BR 14-mulato) fue previamente reportada (Shoshima et al., 2005). Hughes et al. (1996) encontraron digestibilidades *in vitro* para dos variedades de *Phaseolus vulgaris* blanco y negro con tratamiento térmico (cocción por 20 min) de 76 y 68%. Trabajos realizados en *Canavalia ensiformes*, muestran digestibilidades del N *in vitro* (metodología pepsina/pancreatina) de 58% para harina cruda y 89% para harina extruida (Zamora, 2003).

Es importante aclarar que las dietas estuvieron almacenadas por 6 meses a -15°C, lo que pudo afectar los valores de digestibilidad *in vitro* reportados en este trabajo.

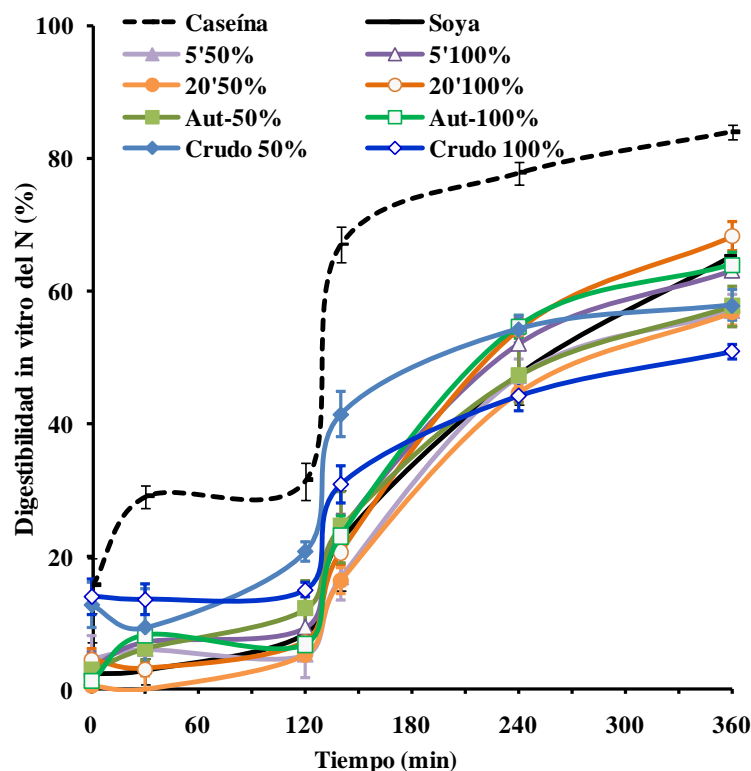


Figura 4. Cinética de hidrólisis *in vitro* de la proteína de las dietas experimentales con diferentes tratamientos térmicos y niveles de sustitución de la proteína del grano de caupí.

Los valores hallados en la digestibilidad *in vivo* fueron notablemente superiores a la digestibilidad *in vitro*, de 19 puntos en promedio para los tratamientos a excepción de la dieta control caseína y caupí crudo 100%. Poca similitud se observa entre dietas, apreciando una baja correlación ($R=0.46$) entre ensayos (Tabla 24). En conclusión dietas caupí con tratamiento térmico presentaron mayor digestibilidad que sin tratamiento con las dos técnicas utilizadas *in vivo* e *in vitro*. Siendo la dieta caupí crudo 100% la que presento una menor digestibilidad de N y mayor para la caseína. Interesantemente, al contrario de los resultados *in vivo*, los valores de digestibilidad *in vitro* mostraron que estos aumentaron con las dietas con 100% para los caupí cocidos (5 y 20 min) de inclusión en comparación con las dietas con 50%. No hay una explicación clara para estos resultados.

Tabla 24. Comparación de digestibilidad *in vitro* e *in vivo* de la proteína de las dietas experimentales con diferentes tratamientos térmicos y niveles de sustitución del grano de caupí.

Dietas	Digestibilidad (%)	
	<i>In vitro</i>	<i>In vivo</i> ¹
Caseína	84	86.1
Torta de soya	65.2	85.8
Caupí 5'50%	57	87.7
Caupí 5'100%	62.9	83.3
Caupí 20'50%	56.6	86.4
Caupí 20'100%	68.2	79.6
Aut. 50%	57.6	80.7
Aut. 100%	63.9	74.2
Crudo 50%	57.8	71.1
Crudo 100%	50.9 (47 ²)	54.3
	R = 0.468	

¹ Digestibilidad ileal verdadera

² Digestibilidad *in vitro* del N de la leguminosa sola

4.2.4 Efecto del nivel de inclusión y tratamiento térmico del caupí en el TGI de las ratas

El efecto de las diferentes dietas (análisis I) y de los tratamientos térmicos y niveles de inclusión (análisis II) de la proteína del caupí sobre el tracto gastrointestinal (TGI) es presentado en la Tabla 25. Diferencias estadísticas para peso, longitud y pH de los diferentes segmentos del TGI fueron encontradas para ambos análisis ($P < 0.05$). Se presento un mayor peso del estómago en ratas que consumieron dietas con nivel de inclusión del 50% especialmente dietas con cocción 20' 50% y menor para 20' 100%. Para el pH del estómago fue menor para dietas con nivel de 100%. Al igual que para el peso, contenido y longitud del intestino delgado (ID), fue mayor para dietas con caupí 50%.

El peso del ciego fue mayor en dietas con nivel del 50%, con tratamiento térmico cocción (5 y 20 min) y autoclave; menor para nivel del 100%. Con un pH más alto para dietas con nivel del 100% y contenido más bajo para este mismo nivel.

El peso del colon fue mayor en ratas con dietas con inclusión del 50%, siendo el tratamiento autoclave y crudo los de mayor peso. La longitud fue mayor para dietas con

cocción (5 y 20 min) con un nivel del 100%, mientras, estas mismas dietas presentaron los más bajos contenidos.

En general, el peso de los diferentes órganos disminuyó con el nivel de inclusión del 100% de proteína del caupí. Una posible explicación a la disminución del peso de los órganos para las ratas que consumieron niveles con 100% es el alto contenido de fibra soluble. Aunque las dietas fueron balanceadas por FDN con la ayuda de cascarilla de arroz, las leguminosas se caracterizan por presentar un alto contenido de fibra soluble. El principal efecto de las fibras es sobre la pared intestinal. Ellas modifican la morfología del intestino, la profundidad y el espesor de las vellosidades. Igualmente, incrementan la pérdidas de células epiteliales y aumento de células caliciformes y por lo tanto, en la producción de mucinas (Leterme, 2002; Tanabe et al., 2005). En cerdos, se ha demostrado que el nivel de fibra en la dieta afecta el volumen del jugo pancreático secretado, la producción total de proteínas y la actividad enzimática que están regulados por la ingesta de proteínas, carbohidratos y grasas (Brannon, 1990 citado por Umapathy et al., 1999).

Resultados en el presente trabajo son similares a lo encontrado por Grant et al. (1995) con consumos de soya en ratas los cuales aumentaban el peso en algunos órganos como estómago, ciego y colon. Igualmente, observaron una mayor longitud del ID en ratas alimentadas con frijol (*Phaseolus vulgaris*). Olivera et al. (2003) encontraron una respuesta similar al alimentar ratas con dietas con lactoalbumina reemplazada por harina de *Vigna unguiculata* crudo (0, 22 y 44% de la dieta), un ligero aumento en el peso del intestino delgado.

El aumento en el peso y longitud del intestino delgado fue observado en broilers (Yuset et al., 1989) cuando el nivel de inclusión de guisantes fue alto. Igualmente, en ratas y pollos alimentados con *Phaseolus vulgaris* y *Vicia faba* (Greer et al., 1985; Rubio et al., 1989 citados por Yuset et al., 1989). Esto podría ser causado por presencia de lectinas en las semillas (Younoszai et al., 1978, citado por Yuset et al., 1989) que pueden ser responsables del aumento de tamaño del ID y este puede ser debido a una hipertrofia de la pared intestinal.

Gómez (2006) evaluando dietas con *Phaseolus vulgaris* en reemplazo de caseína encontró un mayor peso para ciego y colon para las dietas experimentales respecto a la control. Posiblemente esto se deba a una mayor deposición de MS en estos órganos.

Tabla 25. Efecto sobre el tracto gastrointestinal de ratas alimentadas con diferentes niveles de inclusión y tipos de tratamientos térmicos de proteína del grano de caupí.

Dieta	Control ¹		Caupí ¹								DS	P ²	P ³		
	Caseína	Soya	Cocción 5'		Cocción 20'		Aut. 20 min		Crudo				Tto	Nivel	T*N
Nivel (%)			50	100	50	100	50	100	50	100		P			
<i>Estomago</i>															
Peso vacío (g)	1.4 ^{bc}	1.5 ^{ab}	1.4 ^{abc}	1.3 ^{bc}	1.6 ^a	1.3 ^c	1.4 ^{abc}	1.4 ^{bc}	1.5 ^{ab}	1.4 ^{bc}	0.1	0.018	0.628	0.004	0.048
Contenido (g)	6.6 ^f	10.3 ^{ab}	9.5 ^{bc,vw}	7.4 ^{def,xyz}	7.1 ^{ef,yz}	8.4 ^{cde,wxy}	11.1 ^{a,u}	8.5 ^{cd,wx}	11 ^{a,u}	7.9 ^{def,xyz}	1.6	0.001	0.001	0.001	0.001
pH	3.7 ^e	4.6 ^{bc}	4.5 ^{c,w}	4.2 ^{d,x}	4.3 ^{d,x}	4.2 ^{d,x}	4.7 ^{a,u}	4.7 ^{a,u}	4.6 ^{ab,uv}	4.2 ^{d,x}	0.3	0.001	0.001	0.001	0.001
<i>Intestino</i>															
Peso vacío (g)	3.0 ^b	3.1 ^b	3.4 ^{a,u}	3.0 ^{b,v}	3.0 ^{b,v}	3.1 ^{b,v}	3.4 ^{a,u}	3.1 ^{b,v}	3.0 ^{b,v}	3.1 ^{b,v}	0.2	0.001	0.001	0.006	0.001
Contenido (g)	3.1 ^e	7.3 ^{ab}	6.6 ^{bc,vw}	3.6 ^{e,y}	5.4 ^{cd,wx}	5.2 ^{cd,wx}	8.6 ^{a,u}	4.3 ^{de,xy}	8.3 ^{ab,uv}	5.2 ^{cd,wx}	1.9	0.001	0.030	0.001	0.005
Longitud (cm)	104 ^{cd}	103 ^d	107 ^{abc}	104 ^{cd}	110 ^a	108 ^{ab}	106 ^{bcd}	110 ^a	103 ^d	106 ^{bcd}	2.6	0.001	0.029	0.291	0.033
<i>Ciego</i>															
Peso vacío (g)	1.0 ^d	1.1 ^{ab}	1.0 ^{d,x}	0.9 ^{e,y}	1.1 ^{ab,uv}	0.9 ^{e,y}	1.1 ^{a,u}	1.0 ^{cd,wx}	0.8 ^{e,y}	1.1 ^{bc,vw}	0.1	0.001	0.001	0.001	0.001
Contenido (g)	1.7 ^f	2.4 ^c	2.8 ^{a,u}	2.0 ^{e,u}	2.6 ^{b,v}	2.1 ^{de,xy}	2.6 ^{b,v}	2.2 ^{c,w}	2.1 ^{ab,uv}	2.0 ^{de,xy}	0.3	0.001	0.001	0.001	0.001
pH	7.1 ^a	6.9 ^d	6.8 ^{d,x}	7.0 ^{bc,vw}	7.0 ^{abc,uvw}	7.1 ^{abc,uvw}	6.8 ^{d,x}	7.0 ^{c,w}	7.1 ^{ab,uv}	7.1 ^{a,u}	0.1	0.001	0.001	0.001	0.007
<i>Colon</i>															
Peso vacío (g)	1.0 ^{cd}	1.0 ^{cd}	1.1 ^{c,w}	1.0 ^{cd,wx}	1.0 ^{cd,wx}	1.0 ^{cde,wxy}	1.3 ^{a,u}	0.9 ^{e,y}	1.2 ^{b,v}	0.9 ^{de,xy}	0.1	0.001	0.002	0.001	0.001
Contenido (g)	1.5 ^e	1.6 ^d	2.1 ^{b,v}	1.8 ^{c,w}	1.9 ^{c,w}	1.6 ^{d,x}	2.2 ^{a,u}	1.6 ^{d,x}	2.1 ^{b,v}	1.9 ^{c,w}	0.2	0.001	0.001	0.001	0.001
Longitud (cm)	12.2 ^g	13.4 ^d	12.6 ^{f,z}	14.8 ^{a,u}	12.2 ^{g,s}	14.4 ^{b,v}	13.8 ^{c,w}	11.4 ^{h,t}	12.8 ^{e,y}	12.2 ^{g,s}	1.1	0.001	0.001	0.001	0.001

¹ Dietas control (caseína y soya), caupí crudo y tratamientos térmicos con dos niveles de inclusión (50 y 100%).

² Análisis estadístico I, incluyendo todas las dietas. ^{abc} Filas con diferentes letras difieren significativamente a P < 0.05; DS, desviación estándar.

³ Análisis II, en este análisis no se tuvo en cuenta las ratas alimentadas con el control caseína. Por consiguiente, se hizo un arreglo factorial (4*2), cuatro tratamientos térmicos y dos niveles de inclusión. Tto, tratamiento térmico; Nivel de sustitución; T*N, interacción (tratamiento x nivel). ^{wxy} Filas con diferentes letras difieren significativamente a P < 0.05.

FASE III. Prueba de crecimiento y retención proteica.

4.3 Prueba de crecimiento

4.3.1 Efecto de los niveles de inclusión y tratamientos térmicos de la proteína del caupí sobre algunos parametro productivos.

El crecimiento de las ratas durante los 28 días del experimento se ilustra en la Figura 5. Un ligero mayor crecimiento se observó para las ratas alimentadas con la dieta caupí crudo 50% y menor para la dieta torta de soya y caupí 20'50%. Sin embargo, el peso final no fue afectado por las dietas ($P > 0.05$; Tabla 26). Como era de esperarse, las variables de crecimiento fueron afectadas por el factor tiempo (duración de la prueba 28 días) ($P < 0.001$). La ganancia de peso y el consumo aumentaron con el tiempo. Diferencias significativas en la ganancia de peso diaria fueron encontradas entre las dietas ($P < 0.05$). Aunque no se encontraron diferencias en el promedio de las dietas para esta variable, las ratas que consumieron la dieta caupí crudo 50% presentaron los mejores valores. Algunos autores han comprobado que la presencia de cantidades moderadas de inhibidores de proteasas en el caupí, tienen poco o ningun efecto sobre la ganancia de peso corporal en ratas (Olivera et al., 2003).

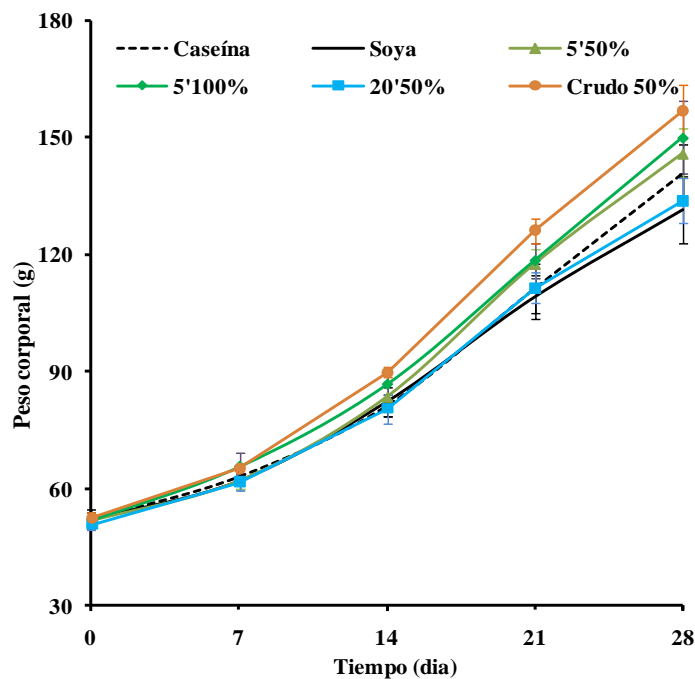


Figura 5. Curva de crecimiento en ratas alimentadas con diferentes niveles de inclusion y tratamientos termicos de la proteína del grano de caupí en las dietas experimentales.

Los presentes resultados no concuerdan con lo reportado por Umapathy et al. (1999) quienes encontraron que cerdos en crecimiento alimentados con dietas a base de soya tratada termicamente (cocción a 100°C/15 min) presentaron un mejor crecimiento que aquellos alimentados con caupí crudo. Igualmente, un efecto depresivo en la ganancia de peso (-40%) y en la conversión alimenticia (-30%) de cerdos destetos alimentados con un 75% de harina de caupí con tratamiento de cocción en comparación con el control soya fue registrado (Erlwanger et al., 1999). Estos autores atribuyeron esta depresión en el crecimiento a la diferencia entre proteínas, contenido de aminoácidos y contenido de factores antinutricionales como los inhibidores de tripsina. Como se menciona en la revisión de literatura, estos disminuyen la digestibilidad y aumentan las pérdidas de aminoácidos endógenos que conduce a una disminución en el crecimiento (Belmar y Nava, 1996). Marcados efectos se han visto sobre la morfología intestinal en cerdos debido a la alimentación con caupí crudo, que conlleva a un bajo crecimiento (Makinde et al., 1996; Umapathy et al., 1999). Li et al. (1981) reportaron ganancias de peso en ratas similares a las halladas en este trabajo, con dietas de harina de soya con un nivel de inclusión 50 y 100% de la harina de guandul con tratamiento térmico (2.8 y 2.3 g/día). Olivera et al. (2003) hallaron en ratas ganancias de peso diarias para harina de *Vigna unguiculata* cruda en reemplazo de lactoalbumina (0, 22 y 44%) de 3.5, 2.8 y 2.3 g/día, respectivamente.

Es importante aclarar que a diferencia de los ensayos reportados previamente, en este trabajo las dietas fueron balanceadas por la proteína ileal digestible (todas las dietas fueron formuladas con 10%). De hecho, el consumo de N digestible diario durante toda la fase de crecimiento fue similar entre todas las dietas ($P > 0.05$; Tabla 27). Por lo tanto, el mejor crecimiento (no significativo) de las ratas que consumieron la dieta con caupí crudo (50% de inclusión), puede ser parcialmente atribuido a un mejor perfil de aminoácidos disponibles para el crecimiento en comparación a la dieta con torta de soya y a las dietas con tratamiento térmicos. En general, el buen crecimiento de los animales que consumieron caupí (crudo o cocido) puede ser influenciado por una mayor cantidad de energía digestible cuando se compara con la dieta control torta de soya (Tabla 23). Esta es alta en las dietas con caupí, la cual es utilizada por el animal para su crecimiento (Hughes et al., 1996). Además, al ser las dietas balanceadas con proteína ileal digestible,

el posible efecto negativo de los inhibidores de las proteasas sobre la digestibilidad de la proteína y sobre las pérdidas endógenas específicas ya han sido descontados.

Para el consumo de N total se encontraron diferencias significativas ($P < 0.001$; Tabla 27), por lo tanto fue similar para todas las dietas a excepción de caupí crudo 50%. Olivera et al. (2003) encontraron consumos de N por día más bajos, para dietas con harina de *Vigna unguiculata* crudo en reemplazo de lactoalbumina de 150 mg/día.

Para las demás variables de crecimiento (consumo y conversión alimenticia) no se encontraron diferencias entre las dietas ($P > 0.05$). Dietas con frijoles cocidos pero no suplementadas con metionina, presentaron un índice de conversión (IC) de 6.3 comparadas con un 3.7 para la dieta control caseína (suplementada con metionina) (Gómez, 2006). Li et al. (1981) hallaron IC para dietas donde la harina de soya sustituyó a la del guandul en diferentes niveles (100, 75, 50, 25 y 0%) de 5.0, 4.2, 4.5, 4.1 y 4.2 respectivamente. Olivera et al. (2003) encontraron que en dietas donde la lactoalbumina fue reemplazada por harina de *Vigna unguiculata* crudo (0, 22 y 44%) el IC aumento (3.7, 3.0 y 2.4, respectivamente).

Ratas alimentadas con dos niveles de caupí (10 y 20% de la proteína) crudo y cocido, no presentaron diferencias para las variables ganancia de peso, consumo y IC (Jabib et al., 2002). Otros trabajos realizados en caupí y *Cajanus cajan* crudos disminuyeron la ganancia de peso corporal de ratas jóvenes, cuando estas leguminosas fueron consumidas (León et al., 1993).

Resultados en este ensayo muestran que: a) las ganancias de peso de las ratas alimentadas con dietas que incluyeron caupí con tratamiento térmico o crudo fueron similares a la dieta control- torta de soya. Contrario a otros estudios, que muestran que la inclusión de granos de leguminosas en la dieta de ratas jóvenes perjudica la conversión de alimento y la ganancia de peso. Sin embargo, como el consumo fue prolongado, hubo posiblemente una adaptación a este ingrediente. Los efectos producidos por los granos en el crecimiento parecen disminuir con el tiempo (Grant et al., 1994). b) la cantidad de N digestible consumido fue igual para todas las dietas, por eso las ratas alimentadas con dieta caupí crudo, presentaron buenos resultados de crecimiento. Sin embargo, el consumo de N total fue más alto para esta dieta comparada con las demás dietas a excepción de cocido por 20 min ($P < 0.001$). Lo que generaría mayor excreción de N en heces. El caupí, al igual que los otros granos de leguminosas

presenta un bajo contenido de aminoácidos azufrados, no obstante, al ser las dietas suplementadas con metionina el crecimiento fue mejor. Gómez (2005) demostró que la adición de metionina a las dietas que contienen granos de leguminosas mejora su valor nutricional. c) Las más bajas ganancias de peso (aunque no significativas) de las ratas alimentadas con caupí tratado térmicamente por 20 min, pueden ser adscritas a la reacción de Maillard entre un azúcar y el radical NH_2 de la lisina, haciendo la lisina indisponible para la síntesis de proteína (Moughan y Rutherfurd, 1996; Newkirk y Classen, 2002). Resultados hallados por Barneveld et al. (1991) citado por Brenes y Brenes (1993) muestran que el calor es el agente causal de la disminución de la utilización de lisina en guisantes suministrados a cerdos en crecimiento. Los estudios realizados sobre retención de lisina demuestran que en guisantes tratados a diferentes temperaturas, la retención de lisina disminuye a pesar de incrementarse la proporción de lisina digestible ileal. Esta es aparentemente absorbida en una forma que es utilizada ineficientemente (Brenes y Brenes, 1993).

Tabla 26. Peso corporal y variables de crecimiento en ratas alimentadas con diferentes niveles de inclusión y tratamientos térmicos de la proteína del grano de caupí en ratas en 28 días.

Dietas:	Control ¹		Caupí ¹				Semana	DS	P ²		
	Caseína	T.soya	Cocción 5'		Cocción 20'	Crudo			Dieta	Tiempo	D*T
Niveles (%):			50	100	50	50					
<i>Peso corporal (g)</i>											
Peso inicial	53	52	52	52	51	52		0.7	0.923		
Peso final	141	132	146	150	134	157		9.6	0.301		
<i>Ganancia de peso diaria (g)</i>											
7	1.6	1.4	1.4	1.7	1.4	1.8	1.6 ^d				
14	2.9	2.9	3.0	3.0	2.7	3.5	3.0 ^c				
21	4.0	3.8	4.8	4.2	4.5	5.2	3.8 ^b				
28	4.2	3.2	4.0	4.3	3.2	4.3	3.9 ^a				
Promedio	3.2	2.8	3.3	3.3	2.9	3.7		0.3	0.317	0.001	
<i>Consumo de alimento diario (g)</i>											
7	7.3	7.3	7.4	7.1	7.5	7.4	7.3 ^d				
14	9.5	8.9	9.6	9.5	9.7	9.5	9.5 ^c				
21	11.9	11.9	12.7	12.1	12.4	11.9	12.1 ^b				
28	14.9	13.1	15.1	14.1	13.7	14.4	14.2 ^a				
Promedio	10.9	10.3	11.2	10.7	10.8	10.8		0.3	0.603	0.001	
<i>Índice de conversión</i>											
7	4.4	5.1	5.1	4.1	5.0	4.1	4.6 ^a				
14	3.2	3.0	3.1	3.2	3.6	2.7	3.1 ^b				
21	2.9	3.1	2.6	2.8	2.7	2.2	2.7 ^b				
28	3.5	4.0	3.7	3.2	4.2	3.2	3.6 ^b				
Promedio	3.4	3.6	3.4	3.2	3.6	2.9		0.3	0.293	0.001	

¹ Dietas control caseína y t. de soya como únicas fuentes de proteína. Dietas caupí con diferentes tratamientos térmicos (crudo, ebullición 5 y 20 min) y niveles de inclusión (50 y 100%).

² D*T, interacción dieta x tiempo. ^{abc} Filas con diferentes letras difieren significativamente a P < 0.05; Prom, promedio/semana; DS, desviación estándar.

4.3.2 Relación eficiencia proteica (PER) y relación proteína neta (NPR)

No se presentaron diferencias estadísticas significativas para los valores de PER y NPR ($P > 0.05$; Tabla 27). Aguirre et al. (2002) encontraron en ratas alimentadas con diferentes niveles de caupí crudo (0, 20, 40, 60, 80 y 100%) valores de PER relativamente menores a los reportados en este trabajo, los cuales disminuyeron a medida que el nivel de caupí crudo aumentó en la dieta (2.2, 2.0, 1.9, 1.9, 1.8 y 1.7%, respectivamente). La diferencia con este trabajo es explicada por las dietas balanceadas con proteína digestible, en el presente estudio. Estos resultados se ven reflejados en el crecimiento de las ratas ya que el PER considera la ganancia de peso como indicativo de la retención de N.

Olivera et al. (2003) encontraron una retención de N relativamente baja para *Vigna unguiculata* cruda. Ellos sugirieron que las proteínas nativas o derivados del caupí, pueden interferir con el sistema metabólico intestinal y así limitar la retención de N en el organismo.

Li et al. (1981) encontraron con diferentes niveles de inclusión de (0, 50 y 100% de la proteína) harina de guandul cocida (60 min a 98°C) en reemplazo de la harina de soya disminuyó los valores de PER (2.4, 1.9 y 1.7) e incremento los de IC (4.2, 4.5 y 5.0) a medida que los niveles incrementaron en las dietas. Valores más altos de PER para caseína de 3.1 y un NPR de 4.1 han sido previamente reportados (López et al., 2006; Arteaga y Ortiz, 1989). Cárdenas et al. (2000) encontraron valores promedio de NPR de 2.9 para cuatro variedades de frijol. Hughes et al. (1996) hallaron un PER y un NPR para *Phaseolus vulgaris* con tratamiento térmico (autoclave por 20 min a 121°C) de 3.2 y 3.7 para frijol blanco y de 2.6 y 3.2 para frijol negro.

4.4 Prueba de retención proteica.

4.4.1 Balance de Nitrogeno (NB)

Diferencias significativas fueron observadas para el NB ($P < 0.001$; Tabla 27). El mejor NB se observó en las ratas alimentadas con la dieta caupí crudo 50% respecto a las demás dietas ($P < 0.05$). Este NB con la dieta caupí crudo puede atribuirse a una mejor utilización de la proteína absorbida, es decir una mejor utilización de los aminoácidos como se mencionó previamente. Esto nos quiere decir que una mayor cantidad de N quedó retenido en las ratas alimentadas con esta dieta. Aguirre et al. (2002) encontraron

que el NB se mantuvo constante en ratas, cuando se sustituyo la torta de soya por caupí crudo en diferentes niveles crecientes de 0 a 100%.

4.4.2 Valor biológico (BV) y Utilización de proteína neta (NPU)

Los valores de BV aparente y verdadero y del NPU verdadero no presentaron diferencias significativas entre dietas ($P > 0.05$; Tabla 27), mientras que los valores para NPU aparente si mostraron diferencias estadísticas ($P < 0.001$). Los valores más altos fueron reportados para caupí crudo 50% y los más bajos para caupí 5'100% y control-torta de soya. Es decir que una mayor cantidad del N ingerido fue retenida por las ratas que consumieron caupí crudo 50%. Valores menores de BV fueron reportados previamente en ratas alimentadas con niveles crecientes de caupí crudo (50 a 55%; Aguirre et al., 2002) y para cuatro variedades de frijol común (*Phaseolus vulgaris*) (55%; Cárdenas et al., 2000). La mejor utilización de la proteína del caupí después del tratamiento térmico (especialmente la cocción) puede ser atribuida a la inactivación de algunos factores anitnutricionales (ejemplo, inhibidores de tripsina; Gomez, 2005) y al cambio estructural de las proteínas, dejándolas mas accesibles a las enzimas proteolíticas (Nielsen et al., 1988).

Silva et al. (2003) en un estudio hallaron valores de NPU para caseína y torta de soya de 97 y 58%, respectivamente. Valores inferiores como el hallado en este trabajo, han sido reportados para caseína (60%) por Church y Pond (1990), citado por Silva et al. (2003).

Según Rubio y Brenes (1995), debe haber alguna razón de tipo fisiológico que explique los bajos valores NPU de las leguminosas. De hecho, la menor utilización de la proteína de raciones por parte de los animales suele ir acompañada de determinadas alteraciones de tipo fisiológico e incluso histológico, como cambios en la pared intestinal, aumento en las secreciones, hipertrofia del páncreas, etc. Por lo que se refiere a las ratas, si bien se observa un incremento en la excreción fecal de N cuando hay una inclusión de habas o altramuces en la ración, es de mayor interés desde el punto de vista fisiológico el incremento en la excreción urinaria de N, fundamentalmente en forma de urea. Ello desde luego da lugar a una menor retención de N, por consiguiente, a valores más bajos de NPU.

Los resultados muestran que: a) las ratas alimentadas con la dieta caupí crudo 50% presentaron los mejores valores NB y NPU aparente, este ultimo respecto al control soya. b) Dietas con 100% de inclusión presentaron valores similares a la dieta control torta de soya. c) hay que tener en cuenta que las dietas son casi iguales por ser balanceadas por proteína digestible y suplementadas con metionina por ende los resultados muestran similitud entre ratas alimentadas con las diferentes dietas para cada una de las variables evaluadas.

Tabla 27. Consumo y variables de retención proteica en ratas alimentadas con diferentes niveles de inclusion y tratamientos térmicos de la proteína del grano de caupí en ratas.

	Control ¹		Caupí ¹			DS	P	
	Caseína	T. soya	Coccion 5'		Crudo			
Niveles (%)			50	100	50	50		
<i>Variables</i> ²								
Consumo MS (g/día)	10.9	10.3	11.2	10.7	10.8	10.8	0.3	ns
Consumo N (mg/día)	204.9 ^b	204.6 ^b	194.4 ^b	197.8 ^b	224.6 ^{ab}	248.1 ^a	20.4	0.001
Cons. N digestible (mg/d)	176.1	172.5	168	161.2	190.3	179	10	0.178
Ganancia de peso (g/día)	3.2	2.8	3.3	3.3	2.9	3.7	0.3	0.317
PER	2.0	2.2	2.7	2.6	2.2	2.3	0.3	0.152
NPR	2.2	2.4	3.0	2.9	2.4	2.6	0.3	0.109
NB (g)	0.75 ^b	0.63 ^b	0.70 ^b	0.61 ^b	0.79 ^b	1.87 ^a	0.5	0.001
BV aparente (%)	65	68	70	62	71	79	5.8	0.117
BV verdadero (%)	79	82	83	76	82	84	3.0	0.428
NPU aparente (%)	53 ^{ab}	49 ^b	53 ^{ab}	46 ^b	54 ^{ab}	66 ^a	6.8	0.014
NPU verdadero (%)	69	65	68	62	68	73	3.7	0.135

¹ Dietas control (caseína, torta de soya), tratamientos térmicos con dos niveles de inclusión para 5 min (50 y 100%) y 50% para caupí crudo y 20 min.

^{abc} Filas con diferentes letras difieren significativamente a P < 0.05; ns: no significativo; DS, desviación estándar.

² Consumo alimento (g/d); Consumo de N digestible (mg/d); PER, relación eficiencia proteica; NPR, relación proteína neta; NB, balance de nitrógeno; BV, valor biológico; NPU, utilización de proteína neta.

CONCLUSIONES

Los objetivos de la tesis fueron: a) Fase I: medir las posibles diferencias en la digestibilidad *in vivo* e *in vitro* de los diferentes niveles de inclusión del grano de caupí en estado crudo en reemplazo de la proteína de caseína y el efecto sobre la anatomía del tracto gastrointestinal (TGI) de la rata; b) Fase II: Al igual que en la fase I, medir la digestibilidad *in vivo* e *in vitro* y el efecto en el TGI de diferentes niveles de inclusión y diferentes tratamientos térmicos del grano del caupí en reemplazo de la proteína de la torta de soya; c) Fase III: medir el valor nutricional de la proteína del caupí con diferentes tratamientos térmicos, en una prueba de crecimiento y retención proteica con dietas balanceadas en proteína ileal digestible.

En la primera fase, las digestibilidades de N disminuyeron a medida que se incrementaba el nivel de la proteína del caupí crudo en las dietas. Por consiguiente, la sustitución más adecuada para reemplazar la caseína por la proteína del grano del crudo del caupí no debe pasar del 33%. Niveles de inclusión del 100% de la proteína del caupí crudo modificaron la anatomía del tracto gastrointestinal (peso, longitud y pH del intestino delgado y ciego). Una alta correlación, entre la digestibilidad *in vivo* e *in vitro* de las dietas fue observada.

En la segunda fase, se encontró que el tratamiento térmico mejoró la digestibilidad de la proteína del caupí, aumentando los valores de digestibilidad del N (a nivel fecal e ileal) para ambos niveles de inclusión. Sin embargo, el mayor incremento de digestibilidad en las dietas se observó con un nivel del 50% y tratamientos térmicos de cocción de 5 y 20 min. Un nivel de inclusión del 100% (tanto para caupí crudo como cocido), disminuyó el peso de varios segmentos del TGI.

A diferencia de la primera fase, una baja correlación entre ensayos *in vivo* e *in vitro* fueron observados entre las dietas que contenían caupí.

Los resultados de la prueba de crecimiento, no mostraron diferencias entre las ratas alimentadas con las diferentes dietas, explicadas porque las dietas fueron suplementadas con metionina y balanceadas por N digestible. Sin embargo, en la prueba de retención proteica la dieta con caupí crudo presentó el mejor valor de NB y NPU aparente, explicado posiblemente a una mejor utilización de sus aminoácidos. Colectivamente, los resultados del presente trabajo sugieren que un nivel de 50% de caupí crudo o 50% de

caupí cocido por 5 min puede llegar a reemplazar la torta de soya en dietas suplementadas con metionina sin detrimento en el desempeño productivo de las ratas. Además, de un mayor aporte de energía digestible por parte del caupí.

Este trabajo da pautas para futuras investigaciones con el uso del grano del caupí en la nutrición de monogástricos, también ampliar más su estudio sobre el efecto en el tracto gastrointestinal, en el intestino delgado (vellosidades y criptas), tamaño del páncreas, de canales, etc. Al igual que estudios electroforéticos de la proteína y sus fracciones proteicas. Se sugiere que estos resultados sean comparados tanto para el material crudo como cocido por 5 min en cerdos y aves.

6. BIBLIOGRAFIA

ACERO, M.A. 2000. Uso del cerdo como modelo biológico para evaluar la calidad de la tortilla por dos procesos de nixtamalización y la fortificación con vitaminas y pastas de soya. Tesis Maestría. Universidad de Colima. Colima. Col. Pag. 122.

AGUIRRE, L.A., SAVON, L., SANTOS, Y., & DIHIGO, L.E. 2002. Protein metabolism and productive performance of rats consuming raw cowpea (*Vigna unguiculata*) grains meal to substitute commercial soybean cake. Blood índices. Cuban Journal of Agricultural Science. Vol. 36. No. 2. Pag. 159-164.

AGUIRRE, L.A., SAVON, L., SANTOS, Y., & DIHIGO, L.E. 2003. Physiological response in rats consuming crude cowpea (*Vigna unguiculata*) grains meal as substitute for commercial soybean. Blood índices. Cuban Journal of Agricultural Science. Vol. 37. No. 1. Pag. 33-35.

ALLENDE, M.J. 2005. Patrones de calidad para el consumo de legumbres secas y métodos de mejoras utilizados para la conservación de dicha calidad. Universidad Nacional de Córdoba. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Departamento de Producción Vegetal. Cátedra de Mejoramiento Genético Vegetal. Pag. 15.

Asesado por internet <agro.uncor.edu/~mejogeve/legumbres.pdf>

ALVARADO, C.A. 2004. Micotoxinas en nutrición Animal. Universidad austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. Valdivia. Chile.

Asesado por internet <www.monografias.com/trabajos16/micotoxinas/micotoxinas.>

ARAÛJO, A.H., A, CARDOSO, P., PEREIRAA, R.A., LIMAA, L.M., OLIVEIRAA, A.S., MIRANDAB, M.R., FILHOC, J.X., & SALESA, M.P. 2002. In vitro digestibility of globulins from cowpea (*Vigna unguiculata*) and xerophitic algaroba (*Prosopis juliflora*) seeds by mammalian digestive proteinases: a comparative study. Food Chemistry. Vol. 78. Pag. 143-147.

ARTEAGA, J., & ORTIZ, L. 1989. Evaluación nutricional de la proteína del grano de seis cultivares de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.)). Revista Facultad de Agronomía. (Maracay), Venezuela. Vol.15. Pag. 213-224. 1989.

- BELMAR, R. & NAVA R. 1996.** Factores antinutricionales en la alimentación de animales Monogástricos. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Autónoma de Yucatán. FMVZ-UADY. Pag. 51-61. Asesado por internet <http://avpa.ula.ve/eventos/viii_encuentro_monogastricos/curso_alimentacion_no_convencional/conferencia-5.pdf>
- BILBAO, R.T. 2000.** Evaluación de la calidad de dos leguminosas durante su almacenamiento comercial. Instituto de farmacia y alimentos. Tesis de doctorado. Universidad de la Habana. La Habana. Pag. 36.
- BOISEN, S. & FERNANDEZ, J.A. 1995.** Prediction of the apparent ileal digestibility of protein and aa in feedstuffs and mixtures for pigs by in vitro analyses. En: Animal Feeds Science and Tecnology. Vol. 51. Pag. 29-43.
- BRENES, A. & BRENES, J. 1993.** Tratamiento tecnológico de los granos de leguminosas: influencia sobre su valor nutritivo. IX Curso de Especialización FEDNA. CSCI y LUCTA, S.A. Barcelona.
- BUTLER, L.G. & BOS, K.D. 1993.** Analysis and characterization of tannins in faba beans, cereals and other seeds. A literature review. In: Recentes advances of research in antinutritional factors in legume seeds: proceedings of de Second International Workshop on 'Antinutritional Factors (ANFs) in Legume Seeds', Wageningen, The Netherlands, 1-3 December 1993. Poel, A.F.B. van der, J. Huisman and H.S. Saini (Editors). EAAP Publication no. 70. Wageningen Pers. Netherlands. Pag. 81-90.
- CABEZAS, M. T., CUEVAS, B., MURILLO, B. ELÍAS, L. G., & BRESSANI, R. 1982.** Nutritional evaluation of the replacement of soybean flour and sorghum by raw cowpea (*Vigna sinensis*). Archivos Latinoamericanos de Nutrición. Vol. 32. Pag. 559-578.
- CAMPABADAL, C.M., VARGAS, E., MUSMANNI, M., MURILLO, M., & FOURNIER, R. 1978.** Efecto de la suplementación con metionina y triptófano sobre el valor nutritivo del frijol Guandul (*Cajanus cajan*) utilizado como fuente de proteína. Revista Agronomía Costarricense. Vol. 2. Pag. 163-169.
- CARDENAS, Q. H., GOMEZ, B. C., DIAZ, N. J., & CAMARENA M. F. 2000.** Evaluación de la calidad de la proteína de 4 variedades mejoradas de frijol. Universidad Nacional Agraria La Molina. Revista Cubana Alimentación y Nutrición. Vol. 14. N° 1. Pag. 22-27.

CASTRO, C.E., & AVILA, M.L. 1993. Control de calidad de insumos y dietas acuícolas: Determinación de la Digestibilidad de la Proteína por Métodos *In vitro*. Deposito de documentos de la FAO. Fundación Chile.

Asesado por internet <www.fao.org/docrep/field/003/AB482S/AB482S07>

CASTRO, M., DIAZ, J., CASTAÑEDA, J., BAEZ, DIAZ, M.F., DIAZ C., & CABRERA, J. 2001. Una alternativa nacional y económica como fuente de proteína para cerdos en crecimiento: *Vigna unguiculata* (var. INIFAT 93). Instituto de Ciencia Animal (ICA) y Instituto de Investigaciones Porcinas (IIP).

Asesado por internet <www.sian.info.ve/porcinos/publicaciones/viencuent/castro>

CHURCH, F., SWAISGOOD, H., PORTER D.H. & CATIGNANI G. 1983. Spectrophotometric assay using o-Phthaldialdehyde for determination of proteolysis in milk and isolated milk proteins. *Journal Dairy Sci.* Vol. 66. Pag. 1219-1227.

COOPERATIVA AGROPECUARIA DE GINEGRA Ltda. COAGRO. 2008. Frijol soya. Importancia de la soya a nivel nacional e internacional. Asesado por internet <www.coagrosoya.org.co/cuotafomento/index.html>

DE RON, A. M., GONZÁLEZ, A. M., MONTEAGUDO, A. B., LEMA, M., & SANTALLA, M. 2004. Colección de *vigna* spp. de la misión biológica de Galicia – CSIC. Misión Biológica de Galicia, CSIC. Apartado 28. 36080 Pontevedra. España

DÍAZ, C.A., & LOPEZ, S. 1997. El cultivo del frijol. Caupí (*Vigna unguiculata*) en el bajo Cauca. Convenio Sena – CORPOICA. Caucasia. Pag. 6.

DÍAZ, C., MACIAS, M., & LY, J. 1999. Índices digestivos de dietas con contenidos de de harina de granos de guandul (*Cajanus cajan*) en cerdos alimentados con raciones basadas en mieles. *Revista Facultad de Ciencias Veterinarias. Cuba.* Vol. 40. No. 3. Pag. 171-175.

DÍAZ, M.F., PADILLA, C., GONZALEZ, A., & MORA, C. 2002. Producción y composición bromatológica de harinas de Vigna: de forrajes, integrales y de granos. *Revista Agricultura técnica. Chile.* Vol. 62. Pag. 266-274.

ECHEVERRÍA, R.W., SARMIENTO, F.L., SANTOS, R.R., & KÚ, J. 2005. Nutrient digestibility in Pelon mexicano pigs fed graded level of cowpea meal (*Vigna unguiculata*). Universidad autonoma de Yucatán. *Revista Computarizada de Producción Porcina.* Vol. 12. No. 1. Asesado por internet <www.cipav.org.co/RevCubana/1201/120106.html>

- EHLERS, A.E. 1997.** Cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.). Department of Botany and Plant Sciences, University of California, Riverside, CA 92521-0124, USA. Field Crops Research. Vol. 53. Pag. 187-204.
- ERLWANGER, K.H., UNMACK, M.A., GRONDAHL, M.L., PIERZYNOWSKI, S.G., AALBAEK, B., DANTZER, V., & SKADHAUGE, E. 1999.** Effects of Dietary Substitution with Raw and Heat-Treated Cowpea (*Vigna unguiculata*) on Intestinal Transport and pancreatic Enzymes in the Pig. Journal of Veterinary Medicine. Vol. 46. No. 10. Pag. 581-592.
- FALCÓN-VILLA, M., YÁNEZ, G.A., & BARRÓN, J.M. 2006.** Effect of rat (*sprague dawley*) sex on digestibility and net protein ratio in foods of different protein quality Universidad de Sonora. México. Revista Chilena de Nutrición. Vol, 33. N° 3.
- FAOSTAT, 2009.** Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Asesado por internet <<http://faostat.fao.org>>
- FORERO, F., & MORENO, G.A. 2006.** Rendimiento de ocho genotipos promisorios de arveja arbustiva (*Pisum astivum* L.) bajo sistema de agricultura protegida. Facultad de Agronomía Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. Revista Fitotecnia Colombiana. Vol. 6, N° 2.
- FREITAS, R.L., TEIXEIRA, A.R & FERREIRA, R.B. 2004.** Characterization of the Proteins from *Vigna unguiculata* Seeds. Journal Agric. Food Chem. Vol. 52. Pag. 1682-1687.
- FURUKAWA A. & TSUKAHARA H. 1966.** On the acid digestion method for the determination of chromic oxide as an index substance in the study of digestibility of fish fed. Bulletin of the Japanese Society of Scientific fisheries. Vol. 32. Pag. 502-506.
- GALLEGOS, T.S., AGUIRRE, P., BETANCUR, A.D., & CHEL, G.L. 2004.** Extracción y caracterización de las fracciones proteínicas solubles del grano de *Phaseolus lunatus* L. Facultad de Ingeniería Química. Universidad Autónoma de Yucatán. Mérida. México. Vol. 54. N°. 1.
- GARZÓN, V. 2003.** Beneficiarios del proyecto con conocimiento y habilidades en el uso de la producción agrícola de la finca para la alimentación animal. Unidad instruccional 7. Asociación de campesinos de Puerto Carreño. Vichada. Pag. 110-123

- GÓMEZ, A.S. 2006.** Valoración Nutricional de Frijol Común (*Phaseolus vulgaris L.*) Variedad Dor 390. Tesis Maestría. Universidad Nacional de Colombia. Sede Palmira. Pag. 65.
- GÓMEZ, E., & PELAYO, V. 2005.** Transformación y mejora del valor nutritivo de la harina de guisante mediante la adición de la enzima fitasa. Tesis de Doctorado. Universidad de Granada. Pag. 223.
- GÓMEZ, M.E., RODRIGUEZ, L., MURGUEITIO, E., RIOS, C.I., MENDÉZ, M., MOLINA, C.H., MOLINA, E., & MOLINA, J.P. 2007.** Árboles y Arbustos forrajeros Utilizados en Alimentación Animal como Fuente Proteica. Fundación CIPAV. Cali. Colombia. Pag. 147.
- GONZALVO, S., NIEVES, D., MACÍAS, J.L., CARÓN, J., & MARTÍNEZ, V. 2001.** Estimates of nutritive value of Venezuelan feed resources destined for monogastric animals. *Livestock Research for Rural Development*. Vol. 13. N° 2. Asesado por internet <www.cipav.org.co/lrrd/lrrd13/2/gonz132.htm>
- GONZÁLEZ, A. 2000.** Efecto del tratamiento térmico sobre el contenido de fibra dietética total, soluble e insoluble en algunas leguminosas. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. Vol. 50. No. 3. Pag. 281-285.
- GONZÁLEZ, T.L., TÉLLEZ, V.A., SAMPEDRO, G.J., & NÁJERA, H. 2007.** Las proteínas en la Nutrición. *Revista salud Pública y Nutrición*. Vol. 8, No. 2.
- GRANITO, M., GUERRA, M., TORRES, A., & GUINAND, J. 2004.** Efecto del procesamiento sobre las propiedades funcionales de *Vigna Sinensis*. INCI. Caracas. Vol. 29. N° 9.
- GRANT, G., DORWARD, P.M., BUCHAN, W.C., ARMOUR, J.C., & PUSZTAI, A. 1995.** Consumption of diets containing raw soya beans (*Glycine max*), kidney beans (*Phaseolus vulgaris*), cowpeas (*Vigna unguiculata*) or lupin seeds (*Lupinus angustifolius*) by rats for up to 700 days: effects on body composition and organ weights. *British Journal of Nutrition*. Vol. 13. Pag. 17-29.
- GUTIERREZ, C. L., GARCÍA, R. L., VÁZQUEZ, O. F. & AHUMADA, M. S. 2005.** Comparación de métodos para determinar el flujo ileal de aminoácidos endógenos y la digestibilidad verdadera de aminoácidos de harina de pescado suministrada a ratas. Centro de Investigación en alimentación y Desarrollo, A.C. Maracaibo. *Revista científica*. Vol. 15. No. 5.

- HUGHES, J.S., ACEVEDO, E., BRESSANI, R., & SWANSON, B.G. 1996.** Effects of dietary fiber and tannins of protein utilization in dry beans (*Phaseolus vulgaris*). Food Research International. Vol. 39 No. 3-4. Pag. 331-338.
- HUISMAN, J., VAN DER POEL, A. F., VERSTEGEN, M. W., & VAN WEERDEN, E. J. 1990.** Antinutritional factors (ANF) in pig production. World Review of Animal Production. XXV. N°. 2. Pag. 77-82.
- JABIB L., BARRIOS P., VEGA A. 2002.** Evaluación del fríjol caupí *Vigna unguiculata* como ingrediente proteico en dietas para pollos de asadero. Universidad de Córdoba, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Departamento de Zootecnia. Montería. Córdoba. Revista MVZ. Vol. 7. N°.1. Pag. 162-167.
- JANSMAN, A.J.M. 1993.** Tannins in feed feedstuffs for simple-stomached animals. Nutrition Research Reviews. Vol. 6. Pag. 209-236
- JONDREVILLE, C., & GALVEZ, J.F. 1995.** Estimación de la digestibilidad de aminoácidos en cereales y sus subproductos en dietas para ganado porcino. XI Curso de Especialización FEDNA. Barcelona. Pag. 70-96. Asesado por internet <dialnet.unirioja.es/servlet/articulo.pdf>
- LANGYINTUO, A.S., LOWENBERG-DEBOER, J., FAYE, M., LAMBERT, D., IBRO, G., MOUSSA, B., KERGNA, A., KUSHWAHA, S., MUSA, S., & NTOUKAM, G. 2003.** Cowpea supply and demand in West and Central Africa. Field Crops Research 82. Pag. 215-231.
- LEÓN, R., ANGULO, A., JARAMILLO, M., REQUENA, F., & CALÍBRESE, H. 1993.** Caracterización química y valor nutricional de granos de leguminosas tropicales para la alimentación de aves. Zootecnia Tropical. Vol. 11. Pag. 151-70.
- LETERME, P. 2002.** Las pérdidas endógenas hasta el íleon del cerdo. 1. Origen y factores de variación. Universidad Nacional de Colombia, Sede Palmira. Acta Agronómica. Vol. 51. N°112. Pag. 15-24.
- LETERME, P., LONDOÑO, A., ESTRADA, F., SOUFFRANT, W. & BULDGEN A. 2005.** Chemical composition, nutritive value and voluntary intake of tropical tree foliage and cocoyam in pigs. Journal of the Science of Food and Agriculture. Vol. 85. No. 10. Pag. 1725-1732.
- LI, M.A., CAMPABADAL, C., & VARGAS, E. 1981.** Complementación del frijol guandul (*Cajanus cajan*) con harina de soya y pescado en dietas para ratas de

laboratorio. Universidad de Costa Rica. Revista Agronomía Costarricense. Vol 5. N° 1. Pag 89-96.

LIMA, L.M., ARAÚJO, A.H., OLIVEIRA, A.S., PEREIRA, R.A., MIRANDA, M.R., & SALES, M.P. 2004. Comparative digestibility and the inhibition of mammalian digestive enzymes from mature and immature cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) seeds. Food Control. Vol. 15. Pag. 107-110.

LIZASO, J. 1994. Programas de alimentación en el cebo de cerdos. X Curso de especialización FEDNA. Madrid. Pag. 27.

Asesado por internet <http://www.etsia.upm.es/fedna/capitulos/94Cap_VIII.pdf>

LOPEZ, C.M., & BRESSANI, R. 2008. Uso del cowpea (*Vigna unguiculata*) en mezclas con fríjol común (*Phaseolus vulgaris*) en el desarrollo de nuevos productos alimenticios. Instituto de Investigaciones, Universidad del Valle de Guatemala. Guatemala, C.A. Archivos latinoamericanos de Nutrición. Vol, 58. N° 1.

LOPEZ. P., SANCHEZ, I., & ROMAN, A.D. 2006. Biological evaluation of the protein quality of different barley varieties (*hordeum sativum jess*) produced in the states of Hidalgo and Tlaxcala in México. Universidad Autonoma del Estado de Hidalgo. México. Revista Chilena de Nutrición. Vol, 33. N° 1.

MAKINDE, M.O., & UMAPATHY, E. 1996. Effects of feeding different levels of cowpea (*vigna unguiculata*) on gut morphology and faecal composition in weanling pigs. South African Journal of Animal Science. Vol. 26. No. 2. Pag. 42-47.

MAIA, F.M., OLIVEIRA, J.T., MATOS, M.R., MOREIRA, R.A., & VASCONCELOS, I.M. 2000. Proximate composition, amino acid content and haemagglutinating and trypsin-inhibiting activities of some Brazilian *Vigna unguiculata* (L) walp cultivars. Universidad Federal do Ceara. Journal of the Science of Food and Agriculture. Vol. 80. Pag. 453-458.

MANRÍQUEZ, H.J. 1993. Control de calidad de insumos y dietas acuícolas: la digestibilidad como criterio de evaluación de alimentos - su aplicación en peces y en la conservación del medio ambiente. Deposito de documentos de la FAO. Fundación Chile. Asesado por internet <www.fao.org/docrep/field/003/AB482S/AB482S08.htm>

McCALLUM, I., NEWELL, W., CRUZ-SUAREZ, L.E., RICQUE, D., TAPIA-SALAZAR, M., DAVIS, A., THIESSEN, A., CAMPBELL, L., MEYER, L.M., PHILLIPS, C., & HICKLING, D. 2000. Uso de arvejon (feed pea, chicharo) *Pisum*

sativum en alimentos para camarones (*Litopenaeus stylirostris* y *L. vannamei*), tilapia (*Oreochromis niloticus*) y trucha (*Oncorhynchus mykiss*). Avances en Nutrición Acuícola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. Mérida, Yucatán. Pag. 19-22.

MICHELANGELI, C., PEREZ, G., MENDEZ, A., & SIVOLI, L. 2004. Efecto del tostado del grano de *Canavalia ensiformis* sobre el comportamiento productivo de cerdos en crecimiento. Centro de Bioquímica Nutricional, Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Central de Venezuela. Maracay, Aragua. Venezuela. Revista Zootecnia Tropical. Vol. 22. N° 1. Pag. 87-100.

MICHELANGELI, C., PEREZ, G., MENDEZ, A., SIVOLI, L & PIZZANI, P. 2004b. Digestibilidad ileal y fecal en cerdos del nitrógeno, aminoácidos y componentes de la pared celular, de granos tostados de *Canavalia ensiformis* (L). Universidad Central de Venezuela. Maracay. Venezuela. Revista Zootecnia Tropical. Vol. 22. N° 1. Pag. 71-86.

MIJÁN, A. 2002. Técnicas y Métodos de Investigación en Nutrición Humana. Editorial GLOSA. Pag. 446.

MOLINA, E., SANZ, R., BOZA, J., & AGUILERA, J. 1983. Utilización de la semilla de altramuz blanca (*Lupinus albus* var. multulupa) en dietas para pollos en crecimiento, como sustituto de la torta de soya. Estudio de su valor energético. Revista Archivos de Zootecnia. Vol. 32. Pag. 295-304.

MONSALVE, L.M, 2007. Efecto De La Suplementación Con Mezclas De Leguminosas Tropicales Sobre La Fermentación Ruminal, El Flujo De Proteína Duodenal Y La Absorción De Nitrógeno En Ovejas. Tesis de Maestría. Universidad Nacional de Colombia. Sede Palmira. Pag. 78.

MONTOYA, C.A. LALLES, J.P. BEEBE, S. MONTAGNE, L., SOUFFRANT, W.B. LETERME P., 2006. Influence of the *Phaseolus vulgaris* phaseolin level of incorporation, type and thermal treatment on gut characteristics in rats. British Journal of Nutrition. Vol. 95. Pag. 116-123.

MONTOYA, C. A., LALLÈS, J. P., BEEBE, S., SOUFFRANT, W. B., LETERME, P. (2005). Effect of the types of *Phaseolus vulgaris* phaseolin and thermal treatment on *in vitro* sequential hydrolysis by pepsin and pancreatin. In 4th International Food Legumes Research Conference. New Dheli, India. Pag. 61-62.

- MONTOYA, C.A, 2007.** Etude de la biochimie de la digestion des phaséolines du haricot (*Phaseolus vulgaris*) in vitro et in vivo: effets du type de phaséoline et du traitement thermique, et impact sur la muqueuse intestinale du rat. Thèse de doctorat, Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Rennes, France, Pag. 177.
- MORALES, E. 2006.** Utilización de diversas leguminosas de grano en la producción de la leche de cabra. Analisis de su valor nutritivo y calidad de la leche producida. Tesis. Universidad de Granada. Facultad de Ciencias. Granada. Pag. 143.
- MOUGHAN, P. J., & RUTHERFURD, S. M. 1996.** A new method for determining digestible reactive lysine in foods. Journal of Agriculture and Food Chemistry. Vol. 44. Pag. 2202-2209.
- MUZQUIZ, M. 2008.** Alimentación Y Salud. Las leguminosas como alimentos funcionales. El espacio especializado en alimentación y salud. Asesado por internet <www.informacionconsumidor.com>
- NEWKIRK, R. W., & CLASSEN, H. L. 2002.** The effects of toasting canola meal on body weight, feed conversion efficiency, and mortality in broiler chickens. Poultry Science. Vol. 85. Pag. 815-825.
- NIELSEN S.S. 1998.** Protein quality test. Food analysis. Second Edition. Aspen Publishers, USA. Pag. 265-279.
- OLIVERA, L., RODRIGUEZ, R., PEREIRA, F., COCKBURN, J., SOLDANI, F., MCKENZIE, N.H., DUNCAN, M., OLVERA, M., & GRANT, G. 2003.** Nutritional and physiological response of Young growing rats to diets containing raw cowpea seed meal, protein isolate (globulins), or starch. Journal of Agriculture and Food Chemistry. Vol. 51. No. 1. Pag. 319-325.
- ONWULIRI, V.A., & OBU, J.A. 2002.** Lipids and other constituents of *Vigna unguiculata* and *Phaseolus vulgaris* grown in northern Nigeria. Food Chemistry. Vol 78. Pag. 1-7.
- OPORTA, E.S., & RIVAS, A.M. 2006.** Efecto de la densidad poblacional y la época de siembra en el rendimiento y la calidad de la semilla de una población de caupí rojo [*Vigna unguiculata* (L.) Walp] en la finca el plantel. Trabajo de Diploma. Universidad Nacional Agraria Facultad de Agronomía. Departamento de Producción Vegetal. Pag. 40.

- ORTIZ, L., & RAMÍREZ, A. 2000.** Estudio Electroforetico de las albúminas y globulinas de cuatro genotipos de *Canavalia ensiformes*. ARCHIVOS LATINOAMERICANOS DE NUTRICIÓN. Facultad de Agronomía, Universidad central de Venezuela. Vol. 50. No. 1.
- PEREIRA DE SALES, M., MACEDO, M.L., & FHILO, X. 1992.** Digestibility of cowpea (*Vigna unguiculata*) vicilins by pepsin, papain and bruchid (insect) midgut proteinases. Comp. Biochem. Physiol. Vol. 103B. N° 4. Pag. 945-950.
- PETERS, M., FRANCO, L.H., HINCAPIÉ, B., RAMÍREZ, G., SCHULTZE-KRAFT, R. 2003.** Evaluation of new *Vigna unguiculata* accessions in Quilichao and Palmira, Colombia. CIAT. Pag. 110-114.
- PIRES, C.V., OLIVEIRA, M.G., ROSA, J.C., & COSTA, N.M. 2006.** Qualidade nutricional e escore químico de aminoácidos de diferentes fontes proteicas. Ciencia e tecnologia dos Alimentos. Brasil. Vol. 26. N° 1. Pag. 179-187.
- QUINTERO, A.V. 2006.** Determinación de inhibición de la tripsina en leguminosas tropicales. Tesis de grado. Universidad Nacional de Colombia. Sede Palmira. Pag. 55
- RACZ, V.J. 1997.** Composición nutricional de la arveja forrajera. Guía de la industria forrajera. Instituto Canadiense Internacional de granos. Canadá. Pag. 7-10.
- RANGEL, A., SARAIVA, K., SCHWENGBER, P., NARCISO, M.S., DOMONT, G.B., FERREIRA, S.T., & PEDROSA, C. 2004.** Biological evaluation of a protein isolate from cowpea (*Vigna unguiculata*) seeds. Food Chemistry 87. Pag. 491-499.
- RODRÍGUEZ, M., & FIGUEROA, V. 1996.** Evaluación de la fracción nitrogenada de diferentes alimentos fibrosos y su efecto sobre la digestibilidad in Vitro. Instituto de Investigaciones Porcinas Gaveta Postal No.1, Punta Brava, La Habana, Cuba. Asesado por internet <www.sian.info.ve/porcinos/publicaciones/rccpn/rev21/MAYDEL.htm>
- RUBIO, L.A., & BRENES, A. 1995.** Utilización de Leguminosas-Grano en Nutrición Animal Problemas y Perspectivas. Instituto de Nutrición y Bromatología – CSIC. Barcelona, 1995. XI Curso de especialización FEDNA. Pag. 15.
Asesado por internet <www.etsia.upm.es/fedna/capitulos/95CAP_X.htm>
- RUIZ, T. E., & FEBLES, G. 1987.** Leucaena leucocephala sus posibilidades para la producción de forraje. Instituto de Ciencia Animal, La Habana, Cuba. Asesado por internet <www.sian.info.ve/porcinos/publicaciones/segencuentr/ruizt.htm>

SALCEDO, G., & SANCHEZ, M.R. 2005. Proteínas de Defensa y de Reserva como Panalergenos Alimentarios de Origen Vegetal. Proteínas de Transferencia de Lípidos, Quitinasas y Vicilinas como Modelos. Unidad de Bioquímica, Departamento de Biotecnología, E.T.S. Ingenieros Agrónomos, UPM, Madrid. www.alergoaragon.org.

SALEH, F., OHTSUKA, A., TANAKA, T., & HAYASHI, K. 2003. Efecto of enzymes of microbial origin on *in vitro* digestibilities of dry matter and crude protein in soybean meal. *Animal Science Journal*. Vol. 74. Pag. 23-29.

SANCHEZ, C.S. 2001. Estudio de las propiedades funcionales de albúminas de amaranto. Instituto Tecnológico de Celayo. México. Asesado por internet <www.pncta.com.mx/pages/pncta_investigaciones_01d.asp?page=01e2>

SARRIA, P. 2000. Forrajes arbóreos en la alimentación de monogástricos. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Colombia. Sede Medellín. Agroforestería para la Producción Animal en América Latina - II - Memorias de la Segunda Conferencia Electrónica (Agosto de 2000-Marzo de 2001).

SAVÓN, V.L. 2005. Alimentación no Convencional de Especies Monogástricas: Utilización de Alimentos Altos en Fibra. Instituto de Ciencia Animal. Km 47½ Carretera Central, San José de las Lajas, La Habana, Cuba. Alimentación no convencional para monogástricos en el trópico. Asesado por internet <http://www.avpa.ula.ve/eventos/viii_encuentro_monogastricos/curso_alimentacion_no_convencional/conferencia-4.pdf>

SERRATOS, A.J. 2000. Aislamiento y caracterización de proteínas de las semillas maduras de *Enterolobium cyclocarpum* para su aprovechamiento alimenticio. Doctorado en ciencias pecuarias. Universidad de Colima. Colima, México. Pag. 67.

SILVA, S.W, ARBAIZA, F.T., CARCELÉN, C.F., & LUCAS, O. 2003. Evaluación biológica en ratas de laboratorio (*Rattus norvegicus*) de fuentes proteicas usadas en alimentación comercial para perros. *Revista de Investigación Veterinarias del Perú*. Lima. Vol 14. N°1. Pag. 18-23.

SHARP, P.E., & LA REGINA, M.C. 1998. The laboratory Rat. Editor-in-Chief. Pag. 214.

SHIMADA, A. 2005. Nutrición Animal. Editorial TRILLAS. México. Pag. 388.

- SHOSHIMA, A.H., TAVANO, O.L., & NEVES, V.A. 2005.** Digestibilidad *In vitro* das proteínas do Caupí (*Vigna unguiculata* L.) var. “BR14-Mulato”: efeito do fatores antinutricionais. Brazilian Journal of Food Tecnology. Vol. 8. N° 4. Pag. 299-304.
- SMIRICKY M.R., GRIESHOP C.M., ALBIN D.M., WUBBEN J.E., GABERT V.M., & FAHEY G.C. 2002.** The influence of soy oligosaccharides on apparent and true ileal amino acid digestibilities and fecal consistency in growing pigs. Journal Animal Science. Vol. 80. Pag. 2433–2441.
- SUNDAY, Y.G. 2005.** Compositional and nutritional properties of selected newly developed lines of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp). Department of Food Science and Technology, Rivers State University of science and Technology, Port Harcourt, Nigeria. Journal of Food Composition and Analysis 18. Pag. 665–673.
- TANABE H, SUGIYAMA K, MATSUDA T, KIRIYAMA S & MORITA T. 2005.** Small intestinal mucins are secreted in proportion to the settling volume in water of dietary indigestible components in rats. Journal Nutrition. Vol. 135. Pag. 2431-2437.
- TOBÍA, C., & VILLALOBOS, E. 2004.** Producción y valor nutricional del forraje de soya en condiciones tropicales adversas. Agronomía costarricense. Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica. Vol. 28, No. 001. Pag. 17-25.
- TSHOVHOTE, N.J., NESAMVUNI, A.E., RAPHULU, T., & GOUS, RM. 2003.** The Chemical composition, energy and amino acid digestibility of cowpeas used in poultry nutrition. South African Journal of Animal Science. Vol. 33. No. 1.
- UMAPATHY, E., ERLWANGER, K.H., MAKKAR, H.P., BECKER, K., & PIERZYNOWSKI, S.G. 1999.** Effects of cowpea (*Vigna unguiculata*) feeding on the pancreatic exocrine secretion of pigs. Journal Animal Physiology and Animal Nutrition. Vol. 82. Pag. 57-65.
- VIVAS, J.N., & MORALES, S. 2005.** Agronomic evaluation and grain production of ten accessions of guandul (*Cajanus cajan*) in Popayan. Cauca. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad del Cauca. Vol. 3. No 1. Pag. 37-40.
- WU W., WILLIAMS W.P., KUNKEL M.E., ACTON J.C., HUANG Y., WARDLAW F.B. & GRIMES L.W. 1996.** Thermal effect on net protein ratio of red kidney beans (*Phaseolus vulgaris* L.). Journal Science Food Agric. Vol. 71. Pag 491-495.

YUSET, P., RUBIO, L.A., & BRENES, A. 1989. Efecto de la inclusión de semillas de guisantes (*Pisum sativum L.*) en la ración sobre los índices productivos y fisiológicos en broilers. Archivos de Zootecnia. Vol. 38. No. 142. Pag. 295.

ZAMORA, N.C. 2003. Efecto de la extrusión sobre la actividad de factores antinutricionales y digestibilidad in vitro de proteínas y almidón en harinas de *Canavalia ensiformis*. Archivos Latinoamericanos de Nutrición. Vol.53. No.3. Pag.293-298. Asesado por internet

<http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222003000300012&lng=es&nrm=iso>. ISSN 0004-0622.>