



Análisis químico de la harina de almendra de conacaste (*Enterolobium cyclocarpum*) y su evaluación biológica en ratas y pollos^{*1/}

RICARDO BRESSANI**, ROBERTO JARQUIN*** LUIZ G. ELIAS*** y J. EDGAR BRAHAM**

ABSTRACT

The chemical composition of the seed of conacaste (Enterolobium cyclocarpum), raw or cooked, was determined. The kernel contains 32-41% of protein, and the husk, more calcium and fiber and less phosphorus and protein than the kernel.

The amino acid content was also studied. The kernel protein showed a good essential amino acid pattern; it is high in lysine and low in methionine. Biological studies in rats showed this protein to be of relatively high quality, but not as good as that of soybean or cottonseed meal.

In trials with chicks, conacaste kernel flour could not replace soybean flour but could partially substitute cottonseed meal. These results indicate that the seed contains a toxic factor for chicks but not for rats. The methionine deficiency in conacaste seed protein is higher than that of soybean meal, probably due to a lower digestibility of the former. — The authors.

Introducción

EN el área de Centro América y Panamá existen muchos productos agrícolas de uso potencial, tanto para consumo humano como para la alimentación de animales. Sin embargo, al presente éstos no se utilizan o bien se emplean muy poco debido principalmente a la falta de conocimientos básicos de su valor, tanto de orden químico como biológico. La disponibilidad de datos sobre la composición química y el valor de la proteína, así como digestibilidad de los nutrimentos en general, permite una utilización más eficaz de los mismos, ya sea por sí solos o bien como ingredientes en la elaboración de raciones destinadas a rumiantes, cerdos y aves.

Una revisión bastante amplia de la literatura referente al material de este estudio reveló que el número

de trabajos que previamente se han hecho con la semilla de conacaste, particularmente desde el punto de vista de la nutrición, es bastante limitado, y que la mayor parte de las investigaciones publicadas (7, 18) tratan del árbol como fuente de madera para la fabricación de muebles.

Howes (11) y Naim Kent y Mateu Amengual (17) informaron sobre la cantidad y composición química de la goma vegetal producida por el *Enterolobium* y especies relacionadas.

Tokarnia, Canella y Dobereiner (21) dieron cuenta, asimismo, de la toxicidad de la fruta del "Timbaubate" (*Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong) en bovinos. El consumo de la fruta produjo pérdida del apetito, apatía, diarrea y otros disturbios digestivos y, finalmente, la muerte de los animales dentro de un breve período, cuando éstos ingirieron cantidades relativamente grandes de la misma. Los hallazgos histopatológicos consistieron de lesiones degenerativas del hígado, en algunos casos, y cambios discretos en el riñón, en todas las instancias.

El presente trabajo tuvo por propósito investigar la composición química, el contenido de aminoácidos esenciales de la almendra de la semilla de conacaste (*Enterolobium cyclocarpum*) y la evaluación biológica de su proteína, así como su posible uso en la elaboración de raciones destinadas a la alimentación de pollos de carne.

* Recibido para la publicación el 19 de abril de 1966.

1/ Este trabajo se llevó a cabo con asistencia financiera de la Fundación Rockefeller, con sede en la ciudad de Nueva York, N.Y., Estados Unidos de América. Los autores agradecen el interés y la ayuda prestada por el Sr. Herbert Herman, de Guatemala, quien generosamente les proporcionó la semilla de conacaste utilizada en el desarrollo de la presente investigación.

** Jefe, y Jefe Asistente de la División de Ciencias Agrícolas y de Alimentos del Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP), respectivamente.

*** Científicos de la División en referencia. Publicación INCAP E-357.

Materiales y Métodos

Semilla de Conacaste

Las muestras de semilla de conacaste fueron recolectadas en tres regiones de la costa sur de Guatemala. Se obtuvieron cantidades suficientes de la fruta, las que se transportaron a los laboratorios de la División de Ciencias Agrícolas y de Alimentos del Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP), donde se procedió a extraer la semilla, descartando el resto de la fruta. Todas las muestras fueron almacenadas bajo refrigeración hasta el momento de someterlas a los análisis químicos pertinentes y ensayos biológicos con ratas y pollos.

Preparación de la Almendra

Se molieron cantidades representativas de semillas de cada una de las tres regiones de donde éstas procedían, utilizando un molino Wiley, a un grueso de 40 mallas. La cáscara de otra muestra representativa fue rota a golpes en un mortero para obtener así la almendra cruda. Luego, tanto ésta como la cáscara fueron molidas en igual forma que en el caso anterior. Parte de la almendra se tostó sobre una hornilla eléctrica a la temperatura de 180°C aproximadamente tres minutos, y la almendra tostada fue molida siguiendo el procedimiento descrito. Otra muestra de semilla representativa de cada región se sometió a cocción con suficiente agua por dos horas, al término de las cuales la cáscara, relativamente suavizada, pudo separarse de la almendra aplicando una leve presión. La cáscara fue luego deshidratada en un horno de aire caliente a 70°C durante 24 horas, lo mismo que la almendra que, a causa de la cocción, se había ablandado. Después de seca, tanto la almendra como la cáscara se molieron en la forma ya expuesta. Todas las muestras se colocaron entonces en frascos oscuros y se almacenaron a 4°C hasta que se realizaron los análisis químicos y microbiológicos.

Análisis Químicos

Las muestras fueron analizadas para determinar su composición química proximal y contenido de calcio, siguiendo para el caso los métodos oficiales de la A.O. A.C. (2). El fósforo se determinó por medio del método colorimétrico propuesto por Fiske y Subbarow (9) modificado por Lowry y López (14), y el contenido de hierro, valiéndose del procedimiento colorimétrico de Jackson (12) y Moss y Mellon (16).

Análisis Microbiológicos de Aminoácidos

Estos análisis fueron realizados únicamente en la almendra cruda y cocida. Las muestras fueron hidrolizadas por medio de HCl 6 N ó NaOH 10 N. La hidrólisis ácida se llevó a cabo colocando un gramo de muestra con 25 cc de HCl, que luego se sometió al autoclave a 16 lb de presión (131°C) durante 8 horas; el mismo procedimiento se empleó para la hidrólisis alcalina.

Después de la hidrólisis el material fue filtrado, luego se neutralizó a un pH de 6.8 y se llevó a 100 cc de volumen con agua. Para la determinación microbiológica de aminoácidos se usaron alícuotas de estos hidrolizados. Todos los aminoácidos fueron determinados en los hidrolizados ácidos exceptuando triptofano, cuya determinación se hizo en el hidrolizado alcalino. Los medios de cultivo empleados fueron Difco o los propuestos por Steele *et al.* (19) usando los siguientes microorganismos: *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus arabinosus* y *Streptococcus faecalis*.

Ensayos Biológicos en Ratas

Se llevaron a cabo tres ensayos con ratas jóvenes en proceso de crecimiento. El primero tuvo por propósito determinar el valor proteico de la almendra cocida usando dietas con diferentes niveles de proteína procedente únicamente de la almendra. Para este fin se alimentaron 42 ratas (21 hembras y 21 machos) jóvenes, de la raza Wistar, de la colonia del INCAP, con las dietas cuya composición se describe en el Cuadro 1. El contenido de almendra de conacaste cocida se aumentó en cinco dietas de 17.0 a 85.0% a fin de lograr concentraciones proteicas entre 5 y 25% en la dieta. Se incluyeron dos grupos adicionales, a uno de los cuales se le administró harina de semilla de algodón y al otro, harina de frijol de soya a una concentración de 10% de proteína en la dieta, con el propósito de comparar el valor proteico de la almendra de conacaste con estos dos concentrados proteicos. Se asignaron al azar 6 animales (3 hembras y 3 machos) por dieta, pero de tal manera que el peso inicial por grupo fuese igual. Los animales, alojados en jaulas individuales de tela metálica con fondo levantado, tuvieron acceso *ad libitum* al agua y a la dieta. Las ratas fueron pesadas cada 7 días por un período total de 28 días y se llevó también un registro del consumo de alimento. Las dietas se analizaron luego por su contenido de proteína por el método Kjeldahl, para calcular su índice de eficiencia proteica.

El segundo ensayo consistió en determinar las deficiencias en aminoácidos de la proteína de la almendra cocida del conacaste. Para este fin se comparó su contenido de aminoácidos con el contenido de aminoácidos esenciales de la leche, indicando la diferencia entre las dos proteínas, cuáles eran los aminoácidos deficientes y la cantidad que de éstos era necesaria agregar a la semilla de conacaste. Para la realización de este estudio se prepararon cinco dietas, cuya composición se da a conocer en el Cuadro 2. Como puede apreciarse, la cantidad de aminoácidos DL agregada fue el doble, ya que la forma D del aminoácido no es utilizada, salvo la metionina, en cuyo caso se emplean igualmente las dos formas (D y L). En este ensayo se emplearon 30 ratas hembras en proceso de crecimiento, las que se distribuyeron en 5 grupos, cada uno de los cuales recibió una dieta diferente, siendo el peso promedio inicial de las ratas el mismo en todos los grupos. El experimento se llevó a cabo según el método descrito anteriormente, por un período de 28 días.

Cuadro 1.—Composición de dietas con diferentes concentraciones de harina de almendra de conacaste cocida, y su efecto sobre el crecimiento de ratas, en contraste con harinas de frijol de soya y de semilla de algodón — (expresada en términos de porcentaje).

Ingredientes	DIETAS						
	1	2	3	4	5	6	7
Harina de almendra de conacaste cocida	17.0	34.0	51.0	68.0	85.0	—	—
Harina de semilla de algodón ¹	—	—	—	—	—	20.0	—
Harina de frijol de soya ²	—	—	—	—	—	—	20.0
Aceite de algodón	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
Minerales Hegsted ³	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0
Aceite de hígado de bacalao ⁴	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Almidón	73.0	56.0	39.0	22.0	5.0	70.0	70.0
Total	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
Solución de vitaminas, ⁵ ml	5	5	5	5	5	5	5
Proteína calculada, %	5	10	15	20	25	10	10

1 Borgonovo Hnos., El Salvador, C. A.

2 General Mills, Minneapolis, Minn., EE. UU.

3 Sales minerales Hegsted (10).

4 Mead Johnson International, Evansville, Indiana, EE. UU.

5 Manna y Hauge (15).

Cuadro 2.—Composición de las dietas elaboradas con harina de almendra de conacaste y suplementadas con aminoácidos — (expresada en términos de porcentaje).

Ingredientes	DIETAS				
	1	2	3	4	5
Almendra de conacaste cocida	34.00	34.00	34.00	34.00	34.00
DL-iso-leucina	—	0.22	—	—	—
L-lisina HCl	—	0.42	—	0.42	0.42
DL-metionina	—	0.28	0.28	0.28	0.28
DL-fenilalanina	—	0.18	—	—	—
DL-treonina	—	0.20	—	—	—
DL-triptofano	—	0.04	—	—	—
DL-valina	—	0.70	—	—	—
Aceite de algodón	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
Minerales Hegsted ¹	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
Aceite de hígado de bacalao ²	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
Almidón	55.00	52.96	54.72	54.30	53.60
Total	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
Solución de vitaminas, ³ ml	5	5	5	5	5

1 Sales minerales Hegsted (10).

2 Mead Johnson International, Evansville, Indiana, EE. UU.

3 Manna y Hauge (15).

El tercer ensayo tuvo por objeto estudiar el efecto de el tostado sobre el valor proteico de la almendra, ya que ésta es la forma usual de consumo en la región. En este caso se emplearon 12 ratas (6 hembras y 6 machos), que se distribuyeron en dos grupos de 6 animales cada uno. Se usó la ración N^o 2 descrita en el Cuadro 1, pero en un caso se utilizó la almendra cocida, y en el segundo, tostada. A los 20 días de iniciado el experimento, 3 ratas que habían sido alimentadas con almendra tostada recibieron 0.63 por ciento de L-lisina HCl en la ración, mientras que las otras 3 continuaron consumiendo la dieta sin ningún suplemento. Ocho días después, a las 3 ratas alimentadas con la almendra tostada más lisina, se les incorporó en la dieta un suplemento de 0.43 por ciento de DL-metionina, y las otras 3 siguieron el mismo tratamiento inicial. Esta parte del ensayo duró 12 días adicionales. Las ratas alimentadas con almendra cocida estuvieron bajo experimentación por un total de 28 días, mientras que las que recibieron sólo la almendra tostada y los suplementos de aminoácidos, estuvieron en observación por un total de 40 días. En este experimento únicamente se obtuvieron datos de su peso.

Ensayos Biológicos con Polluelos

El estudio incluyó tres experimentos con pollos. En el primero y en el tercero de ellos la almendra se preparó sometiéndola a cocción en agua en el autoclave,

como ya se describió anteriormente; en el segundo ensayo la cocción se llevó a cabo de manera similar, pero agregando al agua 2 por ciento de hidróxido de calcio.

En el primero y segundo ensayos se utilizaron 135 pollos Vantress de 3 y 4 días de edad, respectivamente, distribuidos según su peso en 9 grupos, de tal modo que el peso promedio inicial por grupo fuese el mismo; en el primer experimento este fue de 56 g para todos los grupos, y en el segundo, de 67 g. En el tercer ensayo se emplearon 90 pollos distribuidos en 6 grupos con un peso promedio inicial para todos los grupos, de 49 g. Los animales se alojaron en baterías provistas de control termostático y recibieron agua y alimento *ad libitum*.

La composición de las dietas administradas en los dos primeros experimentos se describe en el Cuadro 3. En el primer caso (dietas Nos. 1 a 5) la almendra substituyó a la harina de frijol de soya isoproteicamente, y en el segundo (dietas Nos. 6 a 9) la almendra también substituyó isoproteicamente a la harina de semilla de algodón. En la tercera prueba se usaron las dietas Nos. 1, 5 y 9, con y sin el agregado de metionina, en la proporción de 0.30 por ciento de la dieta. Todas las raciones fueron suplementadas con 1 ml de una solución de vitaminas que por 1000 ml contiene: inositol, 10 g; vitamina K, 5 g; colina, 160 g; PABA, 1 g; niacina, 10 g; riboflavina, 2 g; piridoxina, 2 g; tiamina, 2 g; pantotenato de calcio, 6 g; biotina, 40 mg; ácido fólico, 200 mg, y vitamina B₁₂, 3 mg.

Cuadro 3.—Composición de las dietas utilizadas en los experimentos Nos. 1 y 2, en pollos, substituyendo las harinas de frijol de soya y de semilla de algodón por harina de almendra de conacaste cocida — (expresada en términos de porcentaje).

Ingredientes	DIETAS								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Harina de frijol de soya ¹	19.00	14.25	9.50	4.75	—	19.00	19.00	19.00	19.00
Harina de semilla de algodón ² ...	19.00	19.00	19.00	19.00	19.00	14.25	9.50	4.75	—
Harina de almendra de conacaste cocida ³	—	7.42	14.84	22.26	29.70	7.42	14.84	22.26	29.70
Salmina ⁴	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
Aceite de hígado de bacalao ⁵ ...	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
Aurofac ⁶	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
Harina de alfalfa	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
Maíz amarillo	55.45	52.78	50.11	47.44	44.75	52.78	50.11	47.44	44.75
Total	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
Solución de vitaminas ⁷ ml	1	1	1	1	1	1	1	1	1

1 General Mills, Minneapolis, Minn., EE. UU.

2 Borgonovo Hnos., El Salvador, C. A.

3 En el primer experimento la almendra fue cocida sólo en agua, y en el segundo en agua adicionada de 2% de Ca(OH)₂.

4 Compañía Riverside, Ciudad de Guatemala.

5 Mead Johnson International, Evansville, Indiana, EE. UU.

6 Casa Bizer, Ciudad de Guatemala.

7 Manna y Hauge (15).

Cuadro 4.—Composición química proximal de la semilla de conacaste y sus fracciones — (expresada en términos de porcentaje).

Nombre común	Agua %	Grasa %	Fibra cruda %	Nitrógeno %	Proteína %	Ceniza %	Calcio mg	Fósforo mg	Hierro mg
Semilla entera (Retalhuleu)	9.6	1.9	11.9	3.00	18.7	3.8	146	253	6.2
Cáscara (Retalhuleu)	10.7	0.4	13.6	1.40	8.8	3.6	248	88	6.8
Semilla entera (Caballo Blanco) ..	9.0	1.8	11.7	3.17	19.8	3.8	171	280	5.8
Cáscara (Caballo Blanco)	9.6	0.4	16.7	1.46	9.2	3.8	245	84	6.0
Semilla entera (Patulul)	10.2	1.6	11.0	3.38	21.1	3.8	153	259	4.4
Cáscara (Patulul)	23.4	0.8	14.6	1.41	8.8	2.6	137	68	8.8
Almendra cruda	12.3	2.1	2.1	5.36	33.5	3.0	—	—	—
Cáscara cruda	15.2	0.2	22.6	0.66	4.2	3.7	—	—	—
Almendra tostada	11.4	3.1	1.9	6.56	41.0	3.0	—	—	—
Cáscara tostada	13.1	0.2	23.3	0.66	4.1	3.8	—	—	—
Almendra cruda	11.6	2.7	1.3	5.23	32.7	2.6	—	—	—
Cáscara cruda	15.8	0.2	20.6	1.03	6.4	3.2	—	—	—

Cada experimento duró 28 días, registrándose los datos concernientes al peso de los animales y al consumo del alimento cada 7 días. Las jaulas se sometieron a limpieza diaria y el agua era renovada también todos los días.

Con el fin de disponer de suficiente almendra para llevar a cabo los ensayos biológicos, la semilla necesaria se colocó en recipientes con una cantidad de agua adecuada. Después de dejarla en remojo por 2 horas, todo el material se sometió al autoclave por 30 minutos, a 16 lb de presión y a 131°C. La cáscara se eliminó aplicando una leve presión a la semilla y ésta se secó en un horno de aire caliente a 70°C y durante 24 horas. Luego fue molida y almacenada bajo refrigeración.

Resultados

Composición Química

En el Cuadro 4 se presentan los resultados obtenidos en cuanto a la composición química de la semilla entera, la almendra cruda, cocida y tostada, y la cáscara, también cruda, cocida y tostada. Las tres muestras que, como se dijo, fueron recolectadas en tres regiones distintas de Guatemala, acusaron una composición química similar. Los resultados indican que la concentración de proteína es mayor en la almendra que en la cáscara, ya que la almendra contiene alrededor de 38 por ciento de proteína, mientras que el contenido de la cáscara asciende a cerca de 9 por ciento. En cambio, la cáscara tiene más fibra cruda y calcio que la almendra, si bien el contenido de grasa y fósforo de esta última es mayor. Ambas, la almendra y la cáscara, revelaron cantidades similares de agua y ceniza.

Contenido de Aminoácidos Esenciales

El contenido de aminoácidos esenciales de la almendra cruda y cocida se detalla en el Cuadro 5. Como el

Cuadro 5.—Contenido de aminoácidos esenciales de la almendra de semilla de conacaste, cruda y cocida — (expresada en términos de porcentaje).

Aminoácido	MUESTRA	
	Cruda	Cocida
Arginina	2.08	1.92
Histidina	1.00	1.04
Isoleucina	1.34	1.34
Leucina	0.82	0.82
Lisina	2.28	1.82
Metionina	0.35	0.35
Cistina	0.68	0.47
Fenilalanina	1.18	1.13
Tirosina	0.46	0.51
Triptofano	0.26	0.29
Treonina	1.17	1.06
Valina	1.38	1.40
Nitrógeno	5.36	5.23

examen de los datos revela, no se encontró diferencia en cuanto al contenido de aminoácidos del material crudo y cocido, salvo cierta disminución en el caso de la lisina y de la cistina. Según parece, la proteína de la almendra contiene cantidades adecuadas de aminoácidos con la posible excepción de metionina y cistina.

Ensayos Biológicos con Ratas

Valor nutritivo de la proteína. Los resultados del primer experimento se dan a conocer en el Cuadro 6, pudiéndose observar que los incrementos en peso fueron mayores conforme la cantidad de almendra de la dieta aumentaba. Cuando ésta contenía 17 por ciento de almendra, el aumento fue de 20 g en 28 días, y cuando el contenido de almendra de la ración era de 85 por ciento, el incremento en ese mismo lapso, fue de 154 g. La harina de frijol de soya y la harina de semilla de algodón, que aportaban un 10 por ciento de proteína a la dieta, produjeron incrementos ponderales de 94 y 106 g, respectivamente, cantidad que es aproximadamente el doble del aumento que dio 10 por ciento de proteína de la almendra de conacaste, esto es, 53 g en 28 días. El índice de eficiencia proteica aumentó de 1.30 a 1.70 a medida que el contenido de almendra de conacaste de la dieta ascendía, y luego disminuyó progresivamente hasta 1.36, cuando la dieta contenía 85 por ciento de almendra. Los índices de eficiencia proteica de las harinas de frijol de soya y de semilla de algodón sobrepasaron el de la harina de conacaste, al nivel proteico de 10 por ciento de la dieta.

Efecto de la suplementación con aminoácidos. Los resultados del segundo ensayo biológico, el cual se llevó a cabo en ratas, se presentan en el Cuadro 7. La adición de metionina sola produjo un crecimiento e índice de utilización de la proteína, tan buenos como los resultados obtenidos con el agregado de 7 aminoácidos o con la adición de metionina más lisina, o de metionina, lisina y valina. El suplemento de aminoácidos produjo, asimismo, un mayor consumo de alimento.

Efecto de la cocción y de el tostado de la almendra sobre el crecimiento de ratas. La Fig. 1 describe gráficamente los resultados del experimento. Puede apreciarse que la almendra cocida produjo mejor crecimiento que la almendra tostada; sin embargo, la tasa de crecimiento de las ratas alimentadas con esta última más el agregado de los aminoácidos, fue similar al de las ratas que consumieron sólo almendra de conacaste cocida.

Ensayos Biológicos con Pollos

Los resultados del primer experimento se presentan en el Cuadro 8. A partir de la primera dieta, en la cual no se incluyó la harina de almendra de conacaste, hasta la dieta N° 5 en la que dicha harina de almendra substituyó a toda la harina de frijol de soya, se observa que las ganancias en peso fueron menores en un período de 28 días, siendo éstas de 249 g en el caso de los animales que consumieron la dieta N° 1, y de 190 g en los alimentados con la dieta N° 5. A partir de la dieta N° 6 hasta la N° 10, la harina de conacaste reemplazó a la harina de semilla de algodón. En este caso la dieta testigo es la N° 1 y, como puede notarse, las ganancias en

Cuadro 6.—Efecto de diferentes concentraciones de harina de almendra de conacaste sobre el crecimiento y la utilización del alimento y de la proteína, en ratas, en contraste con harinas de frijol de soya y de semilla de algodón.

Nivel de almendra de conacaste %	PESO		Aumento promedio de peso g	Índice de eficiencia del alimento ¹	Índice de eficiencia proteica ²
	Promedio inicial g	Promedio final g			
17	48	68	20	11.7	1.30
34	47	102	54	5.9	1.70
51	47	144	97	3.7	1.55
68	47	181	134	3.1	1.48
85	47	201	154	2.6	1.36
Harina de semilla de algodón ³	47	152	106	3.9	2.56
Harina de frijol de soya ⁴	47	140	94	3.9	3.11

1 Índice de eficiencia del alimento: g de alimento consumido / g de aumento en peso.

2 Índice de eficiencia proteica: g de aumento en peso / g de proteína consumida.

3 34% de harina de almendra de conacaste para dar un nivel proteico en la dieta de 20%.

4 34% de harina de almendra de conacaste para dar un nivel proteico en la dieta de 20%.

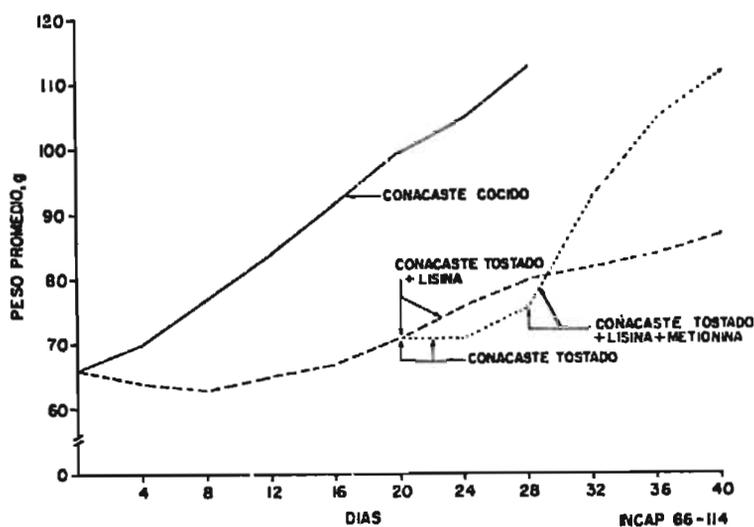


Fig. 1.—Efecto de la harina de almendra de conacaste, cocida y tostada, sobre el crecimiento de ratas.

peso disminuyeron ligeramente y luego aumentaron al incluir 14.84 por ciento de harina de almendra de conacaste en vez de la harina de semilla de algodón. El uso de cantidades de almendra de conacaste cocida, en mayor proporción que la citada, tuvo como resultado menores ganancias en peso. Los índices de utilización del alimento se comportaron de manera similar a los incrementos ponderales cuando la almendra de conacaste substituyó a la harina de soya, en un caso, y a la harina de algodón, en el otro.

Los resultados del segundo experimento realizado también con polluelos, figuran en el Cuadro 9. En este caso el peso final obtenido a los 28 días fue mayor que en el primer ensayo para todos los grupos. Sin embargo, los resultados en cuanto a la semilla de conacaste, fueron semejantes a los del primer ensayo al reemplazar las harinas de soya y de algodón, por dicha semilla. No obstante, en este último caso, los mayores aumentos de peso se obtuvieron al substituir parte de la harina de algodón por 7.42 por ciento de harina de conacaste.

Como en el primer experimento, la inclusión de mayores cantidades de ésta en la dieta provocó disminución en los aumentos de peso.

En el Cuadro 10 se presentan los resultados del tercer ensayo, el cual se hizo en pollos alimentados con las dietas Nos. 1, 5 y 9, con y sin el agregado de metionina. En ningún caso produjo la metionina mejoras en el crecimiento ni en los índices de eficiencia de utilización del alimento.

Discusión

Los resultados de los análisis químicos de que se ha dado cuenta indican que la almendra de la semilla de conacaste tiene cantidades relativamente altas de proteína, cuyo contenido se compara favorablemente con el de otras semillas leguminosas (5, 8, 20). En los análisis que aquí se notifican, la almendra acusó un valor mínimo de 32.7 por ciento en proteína, y uno máximo de 41.0 por ciento. Como en el caso de las semillas leguminosas, la concentración de grasa en la semilla de conacaste es baja. Es de interés destacar el hecho de que, en contraste con la almendra, la cáscara de la semilla contiene cantidades relativamente altas de calcio, lo que bien podría ser la causa de la dureza de esta última, en la cual el calcio pudiera estar ligando fuertemente moléculas de carbohidratos de alto peso molecular. Por el contrario, el contenido de fósforo es más alto en la almendra que en la cáscara, hecho que también ocurre en las semillas leguminosas (20).

En cuanto al contenido de ácidos aminados, la almendra de semilla de conacaste contiene cantidades adecuadas de todos ellos, particularmente de lisina, a pesar de que la cantidad de aminoácidos que contienen azufre, metionina y cistina, es relativamente baja. Este es otro hecho que caracteriza a las proteínas de las semillas leguminosas, las cuales son deficientes en estos aminoácidos (1, 4, 5, 8); asimismo, las proteínas de las semillas leguminosas son fuentes relativamente ricas de lisina, (1, 4, 5).

Cuadro 7.—Efecto de la suplementación con aminoácidos sobre el valor proteico de la almendra de conacaste cocida en pruebas biológicas con ratas.

Dieta Nº ¹	PESO		Aumento promedio de peso g	Promedio del alimento consumido g	Índice de eficiencia del alimento	Índice de eficiencia proteica
	Promedio inicial g	Promedio final g				
1	64	111	47	276	5.9	1.53
2	64	155	91	308	3.4	2.66
3	64	158	94	334	3.6	2.54
4	64	157	93	329	3.5	2.55
5	64	164	100	332	3.3	2.69

¹ Suplementos de aminoácidos en dietas: Nº 1, ninguno; Nº 2, isoleucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptófano y valina; Nº 3, metionina; Nº 4, lisina y metionina; y Nº 5, lisina, metionina, y valina.

Cuadro 8.—Efecto de la substitución de las harinas de frijol de soya y de semilla de algodón por harina de almendra de conacaste cocida, en pruebas biológicas con pollos — (Ensayo N° 1).

Dieta N°	Mortandad	PESO		Aumento total de peso g	Alimento consumido g	Índice de eficiencia del alimento
		Promedio final g	Aumento promedio g			
1	15/1	305	249	3426	8324	2.42
2	15/2	303	247	3097	8122	2.62
3	15/4	264	218	2061	6903	3.34
4	15/0	260	203	3051	8820	2.89
5	15/0	247	190	2855	7565	2.64
6	15/2	268	211	2899	7879	2.71
7	15/1	305	249	3429	8661	2.52
8	15/0	286	229	3438	8605	2.50
9	15/1	274	217	2983	7536	2.52

El contenido de aminoácidos esenciales de la proteína de la almendra de conacaste se refleja en el índice de eficiencia proteica, que aun cuando menor que el de las semillas de algodón y de frijol de soya, es superior al de muchos otros productos de origen vegetal. En el caso del maíz, por ejemplo, este índice es de 1.0 (3, 6), y en el del frijol negro, de 1.20 (4, 6). El índice de eficiencia proteica de la almendra de conacaste compara muy favorablemente con el del caupí (8). En realidad, su composición de aminoácidos sugeriría un índice proteico mayor, pero bien puede ser que la digestibilidad de la proteína sea baja y, por consiguiente, los

aminoácidos se pierdan y no sean utilizados para el crecimiento del animal. En este sentido, cabe señalar que existen muchos casos similares en las proteínas de origen vegetal (1). El índice de eficiencia proteica sugiere que las proteínas de la almendra de conacaste fueron mejor utilizadas por el animal en aquellos casos en que la almendra aportaba un 10 por ciento de la proteína de la dieta. Los resultados del presente estudio indican que el valor proteico de la almendra de semilla de conacaste equivale al 66 por ciento del valor proteico de la harina de semilla de algodón y al 55 por ciento del de la proteína de la harina de soya.

Cuadro 9.—Efecto de la substitución de las harinas de frijol de soya y de semilla de algodón por harina de almendra de conacaste cocida, en medio alcalino, en pruebas biológicas con pollos (Ensayo N° 2)

Dieta N°	Mortandad	PESO		Aumento total de peso g	Alimento consumido g	Índice de eficiencia del alimento
		Promedio final g	Aumento promedio g			
1	15/0	490	422	6333	11277	1.78
2	15/0	464	397	5951	11084	1.86
3	15/0	482	415	6224	11424	1.83
4	15/0	348	281	4213	8285	1.96
5	15/1	266	198	2709	5721	2.11
6	15/0	531	464	6961	12299	1.76
7	15/0	487	420	6302	9994	1.58
8	15/0	401	334	5009	7752	1.54
9	15/2	271	204	2511	4086	1.62

Cuadro 10.—Ganancia de peso e índice de utilización del alimento en polluelos alimentados con las dietas Nos. 1, 5 y 9, con y sin suplementación de metionina — (Ensayo N° 3).

Dieta N°	Tratamiento	PESO		Aumento promedio de peso g	Índice de eficiencia del alimento
		Promedio inicial g	Promedio final g		
1	— Metionina	49	420	371	1.93
2	+ Metionina	49	379	330	1.94
5	— Metionina	49	216	167	3.83
5	+ Metionina	49	212	163	3.87
9	— Metionina	49	284	235	2.19
9	+ Metionina	49	295	246	2.12

Como se enunciara, el patrón de aminoácidos de la proteína de la semilla de conacaste sugería cierta deficiencia en el aminoácido esencial metionina. Los resultados de la suplementación con aminoácidos que incluyó el presente estudio confirman que, en realidad, la metionina es el aminoácido en que dicha semilla es más deficiente, ya que su adición produjo un aumento significativo en el índice de utilización proteica. El hecho de que el agregado de otros aminoácidos a la dieta, en presencia de metionina, no produjera mejores índices, confirma una vez más la deficiencia de metionina en la proteína de la almendra. La proteína de las semillas leguminosas, así como la del frijol de soya, son deficientes en aminoácidos que contienen azufre, esto es, en metionina y cistina (1, 4, 5, 8). Las mismas conclusiones pueden derivarse de los resultados de los experimentos en que se utilizó almendra tostada. En este caso también se notó un pequeño aumento en el peso de los animales cuando se agregó lisina. Es un hecho aceptado que el proceso de tostado reduce el contenido de aminoácidos disponibles, en especial el de la lisina (1, 3, 4, 13).

Los resultados de los ensayos en pollos sugieren tres posibles conclusiones. Primero, que el contenido de lisina de la proteína de la almendra de conacaste es relativamente alta, ya que al reemplazar por ésta parte de la harina de semilla de algodón, se obtuvieron mejores aumentos de peso, lo que no ocurrió en el caso de la soya, debido a que ésta contiene también cantidades altas de lisina. Es posible que la diferencia en peso entre los dos experimentos se deba a que el peso inicial de los animales usados en el segundo ensayo era mayor que el de los que integraron la primera prueba, ya que durante el curso del primer experimento los pollos presentaron ciertos síntomas sugestivos de deficiencia de vitaminas.

La segunda conclusión a que se puede llegar en función de los resultados de los estudios con pollos, es que la almendra de conacaste contiene algún principio tóxico, en vista de que conforme su contenido en la dieta

aumentó, los incrementos en peso fueron menores. Este factor no pudo eliminarse al someter la almendra a cocción en medio alcalino. Según se sabe, la madera de conacaste contiene un principio alergénico que causa molestias a los carpinteros que trabajan con esa madera (7, 18); es posible que éste también se encuentre en la almendra.

Finalmente, la tercera posible conclusión, según los resultados, es que las menores ganancias en peso obtenidas conforme se aumentó el contenido de almendra en la dieta, se debieron a que esto último agudizaba más y más la deficiencia de metionina. La proteína de soya es deficiente en metionina y la proteína de la semilla de algodón contiene cantidades adecuadas de ésta, pero de ningún modo altas. Por consiguiente, cuanto más almendra se usaba para reemplazar las harinas de algodón y de soya, más se acentuaba la deficiencia de metionina. Sin embargo, esta conclusión no es del todo válida en vista de los resultados del tercer ensayo efectuado en pollos, en el cual la adición de metionina no produjo ninguna mejora en el crecimiento de los animales. Es más probable que el efecto de la semilla de conacaste sobre los polluelos se deba a la presencia de un factor tóxico, que aparentemente no afecta a la rata.

Resumen

Se sometieron a estudio varias muestras de semilla de conacaste (*Enterolobium cyclocarpum*) y sus fracciones, almendra y cáscara, en estado crudo, cocido y tostado, con el fin de determinar su composición química. Se encontró que la almendra contiene cantidades relativamente altas de proteína, las cuales oscilan entre 32 y 41 por ciento. La cáscara contiene más calcio y fibra cruda que la almendra, y ésta tiene más proteína y fósforo que la cáscara.

Se investigó también el contenido de aminoácidos de la almendra cruda y cocida, encontrándose que, en general, la proteína de la almendra tiene un buen patrón de aminoácidos esenciales. Se constató que la almendra es buena fuente de lisina, pero deficiente en metionina.

Por otro lado, los estudios biológicos en ratas demostraron que el valor proteico de la almendra es relativamente alto, pero inferior al de la harina de frijol de soya y al de la harina de semilla de algodón de buena calidad. Los ensayos biológicos también revelaron que la proteína de la almendra es deficiente en metionina, ya que la adición de este aminoácido produjo mejores aumentos en peso y mayores índices de eficiencia de utilización del alimento y de la proteína.

En los experimentos llevados a cabo en pollos, se comprobó que la harina de almendra de conacaste no puede reemplazar a la harina de frijol de soya, aun cuando esta sustitución sí puede hacerse parcialmente en el caso de la harina de algodón. Los resultados parecen indicar que la almendra de la semilla de conacaste contiene un factor tóxico hacia el cual el pollo tiene sensibilidad, pero no así la rata. La deficiencia de metionina de que adolece la proteína de la semilla de conacaste es mayor que la de la proteína de soya, probablemente debido a cierta ligera reducción en su digestibilidad proteica. Sin embargo, la proteína de la almendra de conacaste substituye parcialmente a la harina de semilla de algodón, de alta calidad proteica, en forma satisfactoria.

Literatura citada

1. ALTSCHUL, A. M. Processed plant protein foodstuffs. New York, Academic Press. 1958. p. 469.
2. ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS. Official methods of analysis of the A.O. A. C. 9th. ed. Washington, D. C., The Association, 1960. 832 p.
3. BRESSANI, R., CASTILLO, S. V. y GUZMAN, M. A. The nutritional evaluation of processed whole corn flours. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 10(4):308-312. 1962.
4. ———, ELIAS L. G. y VALIENTE, A. T. Effect of cooking and of amino acid supplementation on the nutritive value of black beans (*Phaseolus vulgaris*, L.). *British Journal of Nutrition* 17(1):69-78. 1963.
5. ———, MENDEZ, J. y SCRIMSHAW, N. S. Valor nutritivo de los frijoles centroamericanos. III. Variaciones en el contenido de proteínas, metionina, triptofano, tiamina, riboflavina y niacina de muestras de *Phaseolus vulgaris* cultivadas en Costa Rica, El Salvador y Honduras. *Archivos Venezolanos de Nutrición* 10(1):71-84. 1960.
6. ———, VALIENTE, A. T. y TEJADA, C. All-vegetable protein mixtures for human feeding. VI. The value of combinations of lime-treated corn and cooked black beans. *Journal of Food Science* 27(4):394-400. 1962.
7. CALDERON, S. y STANDLEY, P. C. Flora salvadoreña; lista preliminar de plantas de El Salvador. 2a. ed. San Salvador, El Salvador, Imprenta Nacional, 1941. p. 125.
8. ELIAS, L. H., COLINDRES, R. y BRESSANI, R. The nutritive value of eight varieties of cowpea (*Vigna sinensis*). *Journal of Food Science* 29(1):118-122. 1964.
9. FISKE, C. G. y SUBBAROW, Y. The colorimetric determination of phosphorus. *Journal of Biological Chemistry* 66:375-400. 1925.
10. HEGSTED, D. M. *et al.* Choline in the nutrition of chicks. *Journal of Biological Chemistry* 138:459-466. 1941.
11. HOWES, F. N. Vegetable gums and resins. Waltham, Mass., *Chronica Botanica*, 1949. p. 64.
12. JACKSON, S. H. Determination of iron in biological material. *Industrial and Engineering Chemistry. Analytical Edition* 10(6):302-304. 1938.
13. LIENER, I. E. The effect of heat processing and storage on the nutritive value of proteins of importance in the cereal industry. *Transactions of the American Association of Cereal Chemists* 7:162-185. 1950.
14. LOWRY, O. H. y LOPEZ, J. A. The determination of inorganic phosphate in presence of labile phosphate esters. *Journal of Biological Chemistry* 162(3):421-428. 1946.
15. MANNA, L. y HAUGE, S. M. A possible relationship of vitamin B₁₂ to orotic acid. *Journal of Biological Chemistry* 202(1):91-96. 1953.
16. MOSS, M. L. y MELLON, M. G. Colorimetric determination of iron with 2, 2'-bipyridyl and with 2, 2', 2''-terpyridyl. *Industrial and Engineering Chemistry. Analytical Edition* 14(11):862-865. 1942.
17. NAIM KENT, F. H. y MATEU AMENGUAL, B. Estudio fitoquímico sobre la composición glucídica de algunas leguminosas autóctonas. *Archivos de Farmacia y Bioquímica (Tucumán)* 4:205-218. 1949. (cf *Biological Abstract* 28:17026. 1954).
18. ROJAS, U. Elementos de botánica general, vol. 3. Guatemala, Tipografía Nacional, 1936. p. 689.
19. STEELE, B. F. *et al.* Media for *Leuconostoc mesenteroides* P-60 and *Leuconostoc citrovorum* 8081. *Journal of Biological Chemistry* 177(2):533-544, 1949.
20. TANDON, O. B. *et al.* El valor nutritivo de los frijoles; contenido de nutrientes de variedades de frijoles cultivados en Centro América. *Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana (Supl. No. 3)*. pp. 185-196. 1959.
21. TOKARNIA, C. H., CANELLA, C. F. C. y DOBEREINER, J. Intoxicacao experimental pela fava da "Timbauba" (*Enterolobium contortisiliquum* (Vell, Modong.). *Arquivos do Instituto de Biología Animal* 3(1):73-81. 1960. (cf. *Biological Abstract* 37:10628. 1962).

UTILIZACION DEL CALCIO DEL MAIZ TRATADO CON CAL*

J. Edgar Braham y Ricardo Bressani**

UTILIZATION OF CALCIUM FROM LIME-TREATED CORN

Summary

Several experiments were carried out with corn and with lime-treated corn to determine the absorption and retention of calcium in growing albino rats. The results revealed that the calcium in lime-treated corn was significantly better retained than when added to untreated corn, but not at the same level as that from skim milk. The addition of L-lysine HCl resulted in an increase in calcium absorption and retention, both from the treated and untreated corn, and the addition to lime-treated corn of an amino acid mixture that fulfilled the requirements of the rat, resulted in calcium retention and absorption levels similar to those observed with skim milk. The effects of the addition of amino acids on calcium retention and absorption are discussed.

Introducción

Los estudios dietéticos llevados a cabo en ciertas poblaciones del área centroamericana cuyo alimento principal es el maíz (1), han revelado que la ingesta de calcio es de más o menos el 120% de las cantidades que el Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP), recomienda para estas poblaciones (1a). Este exceso se debe en su mayor parte, al alto consumo de maíz en forma de "tortillas", producto que se prepara con la masa de este cereal tratado con hidróxido de calcio, según el proceso de cocción descrito por Bressani y colaboradores (2). Sin embargo, hasta la fecha no se ha realizado ninguna investigación encaminada a determinar si el calcio proveniente de la tortilla es utilizado en su totalidad por el organismo animal, sobre todo bajo las condiciones nutricionales que prevalecen en esta región de las Américas.

Numerosos investigadores (3, 4) han demostrado que el contenido de calcio de un alimento establecido por métodos químicos, no representa un índice de su subsecuente utilización por el organismo, conclusión a que han llegado valiéndose de estudios en legumbres y cereales cuyo contenido de ácido oxálico o de fitina determina la utilización de calcio del producto en cuestión. En la misma forma, la cantidad y la calidad de los carbohidratos y de las grasas contenidos en estos alimentos, puede traducirse en una mayor o menor absorción del calcio (5).

El maíz presenta otra condición que puede interferir con la utilización del calcio, es decir, el desbalance o deficiencia de ciertos aminoácidos, en especial de lisina, la cual se encuentra asociada a una menor absorción o depósito de calcio en los huesos (6, 8). Es probable que en algunas poblaciones rurales centroamericanas la ingesta de este aminoácido no satisfaga los requerimientos mínimos debido al

* Esta investigación se llevó a cabo con ayuda financiera de la Fundación W. K. Kellogg.

** División de Ciencias Agrícolas y de Alimentos. Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá. Guatemala, C. A.

alto consumo de maíz y que, por lo tanto, aún cuando la ingesta de calcio no está restringida, la absorción o depósito de este mineral sí lo esté, o bien puedan verse obstaculizados por la limitación del aminoácido.

Los estudios que aquí se detallan se llevaron a cabo con el objeto de determinar el grado de absorción del calcio del maíz y de la tortilla preparada con éste, bajo diferentes condiciones.

Material y métodos

Los ensayos de absorción y retención de calcio se efectuaron por el método de balance, ya que aún cuando se intentó determinar el depósito de este mineral, su absorción era tan próxima al 100% en la mayoría de los casos, que tuvo que aceptarse que el método para determinar depósito no era adecuado, dado que una gran parte de los resultados obtenidos excedían el 100% de depósito. Otros autores han obtenido también resultados similares (9).

Para los estudios de balance se utilizaron ratas albinas, machos, de 21 días de edad, de la colonia animal del INCAP, todas ellas de la raza Wistar, las que se alojaron en jaulas metabólicas individuales por un período de 4 semanas. Las dietas usadas en estos experimentos se detallan en la Tabla 1. En los casos en que se adicionó lisina, este aminoácido se incorporó en la proporción de 0.31% de L-lisina HCl que, de acuerdo a los resultados de Bressani (10), es la cantidad óptima requerida para suplementar el maíz en raciones destinadas a ratas en proceso de crecimiento. La mezcla de aminoácidos utilizada, en términos de gramos, consistió de L-lisina HCl, 0.770; DL-triptofano, 0.390; L-histidina, 0.210; DL-fenilalanina, 0.600; DL-isoleucina, 0.400; DL-treonina, 0.640; DL-metionina, 1.018, y DL-valina, 0.620. El total de esta mezcla (4.648 g) se agregó a la ración basal en substitución de una cantidad de tortilla equivalente en peso. Durante la segunda semana del período experimental se colectaron diariamente heces y orina, y se mantuvo control individual diario del consumo de alimento.

El alimento y las heces fueron secados en un horno de aire caliente cuya temperatura no excedía de 100° C. Luego se llevaron a sequedad alícuotas adecuadas de orina, y todas las muestras fueron calcinadas a 500°C, determinándose seguidamente el calcio en la solución ácida de cenizas por permanganimetría, de acuerdo a las indicaciones

Tabla 1

COMPOSICION DE LAS DIETAS USADAS EN LOS TRES EXPERIMENTOS

Ingredientes	Dieta N°		
	1	2	3
Maíz, g	95.5	—	—
Tortilla, g	—	95.5	—
Leche descremada, g	—	—	9.2
Aceite de hígado de bacalao, g	0.5	0.5	0.5
Minerales*, g	4.0	4.0	4.0
Hidróxido de calcio, g	0.215	—	—
Almidón de maíz, g	—	—	81.3
Solución de vitaminas del complejo B**, ml.	5	5	5
Contenido de calcio determinado, mg por 100 g	136	136	136

* Sales minerales Hegsted (14) modificada por eliminación de las fuentes de calcio.

** Manna and Hauge(15).