UNIVERSIDAD AUTONOMA DE EL SALVADOR FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS

El Valor Biológico de Diversas Combinaciones Elaboradas a Base de Cereales y Leguminosas

(Masa de Maiz y Frijol) (Frijol y Arroz)

TESIS

PRESENTADA POR

Ana Teresa Valiente Ibarra

EN EL ACTO PUBLICO DE SU DOCTORAMIENTO

SAN SALVADOR

EL SALVADOR

CENTRO AMERICA

MAYO, 1959.

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE EL SALVADOR FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS

El Valor Biológico de Diversas Combinaciones Elaboradas a Base de Cereales y Leguminosas

(Masa de Maiz y Frijol) (Frijol y Arroz)

TESIS

PRESENTADA POR

Ana Teresa Valiente Sharra

EN EL ACTO PUBLICO DE SU DOCTORAMIENTO

SAN SALVADOR

EL SALVADOR

CENTRO AMERICA

MAYO, 1959.

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE EL SALVADOR

Dr. Napoleón Rodríguez Ruiz Rector

Dr. Roberto Emilio Cuéllar Milla Secretario General

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS

Dr. Francisco González Suvillaga
Decano

Dr. Roberto A. Machado Secretario Los suscritos, Presidente y Vocales del Tribunal de Doctoramiento Público, nos hemos reunido en el Decanato de la Facultad de Ciencias Químicas a fin de dictaminar sobre la Tesis presentada por la Bachiller ANA TERESA VALIENTE IBARRA, intitulada "EL VALOR BIOLOGICO DE DIVERSAS COMBINACIONES ELABORADAS A BASE DE CEREALES Y LEGUMINOSAS (MASA DE MAIZ Y FRIJOL) (ARROZ Y FRIJOL). Y encontramos que dicha Tesis SI reune los requisitos exigidos por el Estatuto orgánico de la Universidad, la aprobamos por UNANIMIDAD de votos.

En fe de lo cual firmamos el Acta en San Salvador, a los tres días del mes de abril de mil novecientos cincuenta y nueve.

Dr. Raúl Montoya, Presidente.

Dra. Amanda Stella de López, Vocal Dr. Alirio Menjivar, Vocal. Nosotros los abajo firmados, Presidente, Vocal y Secretario que integran el Tribunal de Examen para el Segundo Examen General Privado de doctoramiento de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. En cumplimiento del Acto que antecede admitiendo a ANA TERESA VALIENTE IBARRA a las pruebas correspondientes al Segundo Examen Privado de Doctoramiento en la expresada Facultad, nos hemos reunido hoy en el local de la Escuela de Ciencias Químicas y Farmacia para practicar dicho examen, y si habiendo contestado satisfactoriamente el sustentante las preguntas que le hemos hecho y resueltos los argumentos que le fueron propuestos, lo hemos calificado con la Nota Aprobada por UNANIMIDAD de votos.

En fe de lo cual firmamos la presente en San Salvador, a los cuatro días del mes de enero de mil novecientos cincuenta y seis.

Dr. Julio César Morán Ramírez, Presidente.

Dr. Carlos Mata Gavidia, Secretario. Dr. Francisco González Suvillaga, Vocal. Nosotros los abajo firmados, Presidente, Vocal y Secretario que integran el Tribunal de Examen para el Primer Examen General Privado de doctoramiento de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. En cumplimiento del Acto que antecede admitiendo a ANA TERESA VALIENTE IBARRA a las pruebas correspondientes al Primer Examen Privado de Doctoramiento en la expresada Facultad, nos hemos reunido hoy en el local de la Escuela de Ciencias Químicas y Farmacia para practicar dicho examen, y si habiendo contestado satisfactoriamente el sustentante las preguntas que le hemos hecho y resueltos los argumentos que le fueron propuestos, lo hemos calificado con la Nota Aprobada por UNANIMIDAD de votos.

En fe de lo cual firmamos la presente en San Salvador, a los diez días del mes de diciembre de mil novecientos cincuenta y seis.

Dr. Luis A. Amaya, Presidente.

Dr. Amílear Avendaño, Secretario.

Dr. Roberto A. Machado, Vocal.

JURADOS:

PRIMER EXAMEN PRIVADO

DR. LUIS A. AMAYA

DR. AMILCAR AVENDAÑO

DR. ROBERTO A. MACHADO

SEGUNDO EXAMEN PRIVADO

DR. JULIO CESAR MORAN RAMIREZ

DR. CARLOS MATA GAVIDIA

DR. FRANCISCO GONZALEZ ZUVILLAGA

DOCTORAMIENTO PUBLICO

DR. RAUL MONTOYA

DRA. AMANDA STELLA C. de LOPEZ

DR. ALIRIO MENJIVAR

DEDICATORIA:

A mis padres:

Victor Manuel Valiente (Q.D.D.G.)

Marcela I. v. de Valiente.

Con todo amor.

A mi hermana

Dalila Valiente Ibarra. Con todo mi cariño.

A mis abuelos:

Candelario Ibarra (Q.D.D.G.) Isidra v. de Ibarra. Con cariño.

A mis maestros:

Con estimación y gratitud.

A mis compañeros y amigos:

Con mucho aprecio.

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

Presento a vuestra consideración este trabajo de Tesis, como último requisito para obtener el Título de doctor en Química y Farmacia.

Este trabajo se realizó en los Laboratorios del Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP), Ciudad de Guatemala, bajo la dirección del Dr. Ricardo Bressani, Jefe de la División de Química Agrícola y de Alimentos.

INDICE

]	PAGINA
I.	INT	TRODUCCION	21
II.	RE	VISION DE LA LITERATURA	22
III.	MA	TERIAL Y METODOS	23
	A.	Estudios Químicos	23
	В.	Ensayos Biológicos	24
IV.	RES	SULTADOS	27
	A.	Composición Química	27
	В.	Contenido de Aminoácidos	27
	C.	Combinaciones de Masa y de Frijol Cocido	29
		1. Estudios biológicos con ratas jóvenes.	
		2. Experimentos de depauperación y repleción proteica realizados con ratas adultas.	
		3. Análisis químico del hígado de ratas jóvenes usadas en los experimentos de crecimiento.	
		4. Estudio histopatológico del hígado de ratas jóvenes sujetas a dietas elaboradas a base de masa y de frijol cocido.	
	D.	Combinaciones entre Arroz y Frijol cocido	32
		1. Estudios de crecimiento de ratas.	
		2. Estudios de depauperación y repleción proteica en ratas adultas alimentadas con dietas de frijol y arroz.	

	3. Análisis químico del higado de ratas jovenes usadas en el ex- perimento de crecimiento.	
	 Análisis histopatológico del hígado de ratas jóvenes sujetas a dietas elaboradas a base de arroz y de frijol cocido. 	
	E. Suplementación con Aminoácidos	35
	Suplementación de las dietas 4 (masa y frijol) y 4-A (arroz y frijol) con aminoácidos, administradas a ratas adultas depauperadas de proteína.	
v.	DISCUSION	36
VI.	RESUMEN	39
VII.	RECONOCIMIENTOS	41
7111	REFERENCIAS	10

I. INTRODUCCION

Las numerosas encuestas nutricionales realizadas en los últimos años por el Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (I.N.C.A.P.) (11,19,20,21,22,47,53,54) en la zona centroamericana, así como los diversos informes de estudios sobre nutrición llevados a cabo en otras partes del mundo (40), han demostrado que el maíz es un cereal de suma importancia en la alimentación humana. Tales informes indican que en aquellas regiones en donde el maíz constituye la parte principal de la dieta, es prevalente la desnutrición proteica en los niños, desarrollándose enfermedades nutricionales como el Síndrome de Pluricarencia Infantil o Kwashiorkor. En el área de Centro América y en otros países latinoamericanos, el maíz se consume en la dieta humana en forma de tortilla y contribuye con, aproximadamente, un 64% de la ingesta proteica diaria. Diversos estudios han demostrado que, en general, la tortilla, en comparación con el maíz crudo, produce mejor crecimiento en las ratas (36,37,56). Sin embargo, a pesar de que desde el punto de vista de la nutrición el maíz mejora al prepararlo en forma de tortilla, ésta todavía adolece de ciertas deficiencias, sobre todo de los aminoácidos esenciales; tales deficiencias se deben corregir a fin de permitir que las poblaciones que lo consumen tengan una mejor utilización del maíz en su alimentación diaria.

Otro cereal de bastante consumo en los países de la América Central así como en otras partes del mundo, es el arroz. En forma parecida al maíz, aunque en menor grado, sus proteínas son deficientes en aminoácidos esenciales, y para que el arroz constituya un mejor alimento en la nutrición humana, tales deficiencias deben ser corregidas,

Entre las semillas leguminosas, el frijol es el alimento que más se consume en las zonas ya mencionadas. Este contribuye con un promedio del 25% de la ingesta proteica diaria. El frijol se considera como fuente concentrada de calorías y de proteínas. En las regiones donde las proteínas de origen animal son escasas y de alto costo económico, la semejanza general de la composición de aminoácidos esenciales del frijol con la de la carne, hace de las proteínas de esta semilla un complemento natural de las de los cereales.

Debido a la gran importancia nutricional que tienen el maíz, el arroz y el frijol, según se ha mencionado en los párrafos anteriores, y por no conocerse las combinaciones óptimas entre ellos en lo que respecta a la complementación de sus proteínas, especialmente en lo que se refiere a un mejor balance de los aminoácidos esenciales, se decidió realizar una serie de investigaciones con el fin de estudiar hasta qué grado era posible mejorar la calidad de las proteínas de los dos cereales complementándolas con las del frijol. Era de esperar que la información a derivarse de estos estudios demostraría ser de mucho valor e importancia, proporcionando una base sólida de experimentación para hacer las recomendaciones más adecuadas en lo que respecta a las proporciones óptimas en que deben mezclarse los alimentos, tema de esta investigación, para la mejor nutrición de los niños y de los adultos en general.

Los experimentos se llevaron a cabo, tanto en el laboratorio químico como en el de experimentación animal, tratándose de determinar las combinacione: proteicas óptimas entre el maíz en forma de masa y el frijol cocido, así como entre el arroz y el frijol cocido. La evalua-

ción de los ingredientes y de las combinaciones se hizo: a) por medio del análisis químico de los materiales; b) mediante la determinación de los aminoácidos esenciales, tanto en estado crudo como en estado cocido; c) por medio de estudios de crecimiento de ratas jóvenes o de recuperación proteica de animales adultos depletados de sus reservas proteicas. La calidad proteica de las mezclas también se evaluó por medio del análisis químico del contenido de proteína y de grasa, así como por el estudio histológico de los hígados de los animales alimentados con las dietas compuestas de los materiales mencionados. Estos últimos ensayos se llevaron a cabo como una prueba más del balance de aminoácidos en las mezclas entre los materiales bajo estudio. Los métodos empleados para la práctica de estos experimentos se detalla en una sección posterior de este informe.

II. REVISION DE LA LITERATURA

Relativamente se han realizado pocos estudios en lo que concierne a las combinaciones óptimas entre las proteínas del maíz y del frijol, y entre las proteínas del arroz y del frijol. Sin embargo, corrientemente se dice que las combinaciones entre los cereales y las leguminosas son nutricionalmente mejores que los cereales solos o las leguminosas solas. En la literatura se encuentran numerosos estudios sobre el valor biológico de los cereales, especialmente en lo que respecta al maíz. Es un hecho bien conocido que el valor biológico de las proteínas del maiz es de baja calidad nutricional (40,43,44,51,56), debido a que este cereal contiene cantidades altas de zeína (10,27,44), proteína de calidad nutricional pobre (25,43,44). Por la gran importancia que tiene el maíz, tanto en la nutrición humana como en la alimentación animal (19,20,21,22,40), se han realizado numerosos estudios encaminados a lograr su mejoramiento nutricional no solamente por medios agronómicos (23,24,26,50), sino también complementando el maíz con otras sustancias (9,13,40,51,52,58). Diversos investigadores han demostrado que los aminoácidos más limitantes del maíz son la lisina, el triptofano y la isoleucina, tanto en el caso de los animales de laboratorio (25,51,58) como de los seres humanos (9,52). Se ha logrado un gran mejoramiento del valor biológico de las proteínas del maíz suplementándolo con los aminoácidos en él más limitantes: lisina, triptofano e isoleucina (9,25,51,52,58), así como mediante la adición de concentrados proteicos que, juntamente con el maíz, se usan para la alimentación de aves, de cerdos y de otros animales (4,5,13,40.56); el mismo objetivo se ha logrado elaborando mezclas vegetales con maiz para la alimentación de niños y de adolescentes. Es posible que no se haya tratado de investigar la complementación óptima entre el maiz y las leguminosas, por considerarse el maiz en la nutrición animal como un concentrado calórico, como realmente lo es. Sin embargo, como se mencionara anteriormente, el consumo del maiz es tan significativo en las regiones de la América Central, que es muy importante determinar cuál es la complementación óptima entre estos dos alimentos.

Se ha demostrado que, entre los cereales, el arroz también contiene proteína de calidad nutricional pobre aunque ligeramente superior a la del maíz. En el arroz son limitantes los aminoácidos esenciales, lisina y treonina, y mediante la adición de los aminoácidos mencionados se ha logrado un mejoramiento significativo de su valor biológico (14,29,34,35,45,59). Al administrarse a ratas como único alimento este cereal no sólo no permite su buen crecimiento sino también es causa de que se acumulen grandes cantidades de grasa en el hígado de los animales, como lo han demostrado distintos investigadores (14,29,48). Esta grasa queda eliminada por completo suplementando el arroz con lisina y con treonina (14,29,45). Mediante estudios realizados con seres humanos (32) también ha quedado demostrado que la adición de lisina al arroz mejora su valor proteico en cierto grado; a fin de lograr una mejora significativa de su valor biológico, fue necesario, en tales estudios, agregar otros aminoácidos esenciales.

En los últimos años se ha estudiado en detalle el valor biológico de las proteínas de las leguminosas, en particular las del frijol, debido a la importancia que estas semillas puedan tener en la alimentación humana, en especial en las regiones donde la proteína de origen animal es escasa o de alto costo. La evaluación proteica de estas semillas se ha realizado tanto por medio de la composición de aminoácidos esenciales, como valiéndose de estudios biológicos. El frijol contiene mayor cantidad de proteínas que los cereales (60), las que tienen un alto contenido de lisina aunque son deficientes en metionina y en cistina (4,6,33,49,60). Las proteínas de los cereales maíz y arroz son de bajo contenido de lisina y tienen valores aceptables de metionina y de cistina. Por consiguiente, ambos alimentos deben necesariamente complementarse en su valor proteico.

En estudios nutricionales realizados con ratas, Baptist (4,5) encontró que las dietas elaboradas a base de un cereal y de una leguminosa mantenían un buen crecimiento en los animales, parecido al que producía la ración de manutención de la colonia de animales utilizada por dicho investigador. En un reciente informe procedente de Rusia (61) se describen diferentes mezclas de cereales y de leguminosas que resultaron tener un alto valor nutritivo. La mejor combinación, según se notificó, fue la compuesta de 60% de trigo sarraceno, 20% de frijol de soya y 16% de arroz. Desikachar, Sankaran y Subrahmanyan (15) y Phansalkar y Patwardhan (46) demostraron que por medio del agregado de semillas de leguminosas, se podía obtener un mejoramiento del valor nutritivo de los cereales al ser administrados a ratas en dietas combinadas.

III. MATERIAL Y METODOS

A. ESTUDIOS QUIMICOS

Para la realización de los estudios químicos y biológicos se usaron alrededor de 100 libras de maíz, 100 de arroz y 100 de frijol negro.

El maíz, procedente de las tierras altas de Guatemala, se preparó en forma de masa siguiendo para ello el método corriente usado para la elaboración de las tortillas según lo han descrito Bressani, Paz y Paz y Scrimshaw (7).

El frijol negro se obtuvo de Tecpán, Guatemala, y para la preparación del frijol cocido se pesaron 1,000 gramos de frijol crudo limpio, agregándosele agua hasta 3 cm. por arriba del nivel del grano (1.8 a 2 litros de agua por kg. de frijol). Luego se cubrió el recipiente para cocinar el frijol, lo que se hizo en el autoclave, durante una hora, a 16 libras de presión y a 121° C. A continuación el frijol ya cocido se secó bajo corriente de aire caliente a 80° C. y se molió a un grueso de 40 mallas en un molino Wiley. La harina fue envasada en frascos de vidrio y almacenada a 4° C.

La muestra de arroz se obtuvo de un beneficio de Guatemala, en la forma de grano pulido que se usa comunmente en la alimentación. Al igual que la masa de maiz y que el frijol (crudo o cocido), el arroz fue molido a 40 mallas en el molino Wiley, almacenándose la harina en el cuarto refrigerado a 4° C.

Los materiales mencionados (maíz crudo, masa de maíz, frijol crudo y cocido y arroz crudo) se analizaron para determinar su contenido de humedad, de extracto etéreo (grasa), de fibra cruda, de cenizas y de nitrógeno, empleándose para ello los métodos de la A.O.A.C. (2). Los resultados de estos análisis figuran en la Tabla 1.

El contenido de aminoácidos esenciales de los tres alimentos se determinó por métodos microbiológicos; se usaron medios Difco * y Leuconostoc mesenteroides P-60 en las determi-

^{*} Difco Laboratories, Detroit 1, Michigan, E. U. A.

TABLA 1

Composición química de materiales usados en ensayos biológicos.

(Gramos por 100 gramos)

Nutriente	Maíz Crudo	Masa	Frijol Crudo	Frijol Cocido	Arroz Crudo
Humedad	. 14.20	11.50	12.40	10.50	9.40
Nitrógeno	. 1.47	1.32	2.96	3.14	1.10
Proteina	. 9.18	8.25	18.50	19.62	6.87
Extracto Etéreo	. 4.00	3.30	1.30	0.50	0.60
Fibra Cruda	. 3.10	2.30	4.80	5.60	0.20
Cenizas	. 1.20	2.70	4.20	3.50	0.60
Carbohidratos	. 68.32	71.95	58.30	60.28	81.23
Calorías	. 346	351	323	324	358

naciones de lisina, de metionina, de leucina, de isoleucina, de arginina, de cistina, de fenilalanina y de tirosina. Para los análisis de histidina y de valina se empleó medio sintético según lo recomiendan Steel y colaboradores (57). Para la determinación de treonina también se usó medio sintético y se inoculó con *Streptococcus faecalis* 8043. El triptofano fue determinado en hidrolizados alcalinos y para ello se usó medio Difco y *Lactobacillus arabinosus* 17-5.

B. ENSAYOS BIOLOGICOS

Los experimentos de mezclas de frijol y tortillas consistieron en dos ensayos hechos con ratas jóvenes en el proceso de crecimiento. Se emplearon, en el primero, 36 y en el segundo 48 ratas blancas del tipo Wistar de la colonia del INCAP, de 4 semanas de edad, usándose en ambos ensayos 3 hembras y 3 machos por dieta. Se prepararon, respectivamente, 6 y 8 dietas isocalóricas, isoproteicas (1.15 g. de nitrógeno por ciento) y con las mismas concentraciones de fibra cruda, cada una de las cuales contenía, de 100 a 0% progresivamente, niveles de proteína procedentes de uno de los dos alimentos, siendo complementadas, de 0 a 100%, con proteínas del otro. Los detalles de la distribución de la proteína de la dieta se presentan en la Tabla 2.

Las raciones contenían, además, 2% de aceite de hígado de bacalao*, 2% de fibra cruda (Alfacel**), 5% de aceite de algodón, 5% de sales minerales***, y almidón en cantidades suficientes para completar 100 gramos de dieta. Todas las raciones fueron suplementadas con 5 ml. por 100 gramos de dieta de una solución de vitaminas para proveer los niveles vitamínicos empleados por Manna y Hauge (38).

En los estudios relativos a las mezclas de arroz y frijol cocido se emplearon 48 ratas blancas, hembras, del tipo Charles River, de 4 semanas de edad, cuyos pesos iniciales oscilaban entre 47 y 59 gramos. Para cada dieta se asignaron 6 ratas. Cabe mencionar que en todos los experimentos en que se usó masa y frijol cocido se emplearon ratas de la colonia del

^{*} Mead Johnson & Co., Evansville, Indiana, E.U.A. Contiene 1,800 USP de vitamina A y 175 USP de vitamina D por gramo.

^{**} Nutritional Biochemicals Corporation, Cleveland, Ohio, E.U.A.

*** Nutritional Biochemicals Corporation, Cleveland, Ohio, E.U.A.

Salt mixture No. 2, USP XIII.

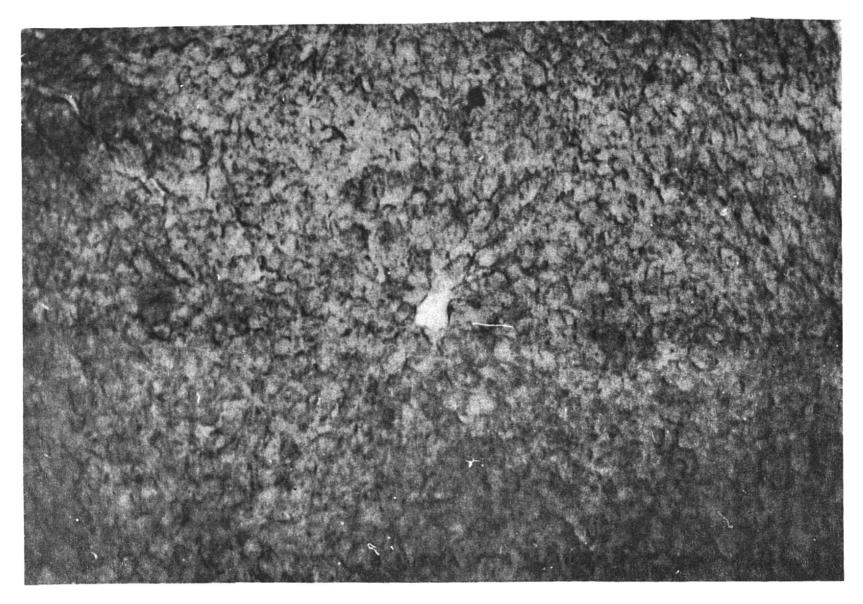


Figura 1.

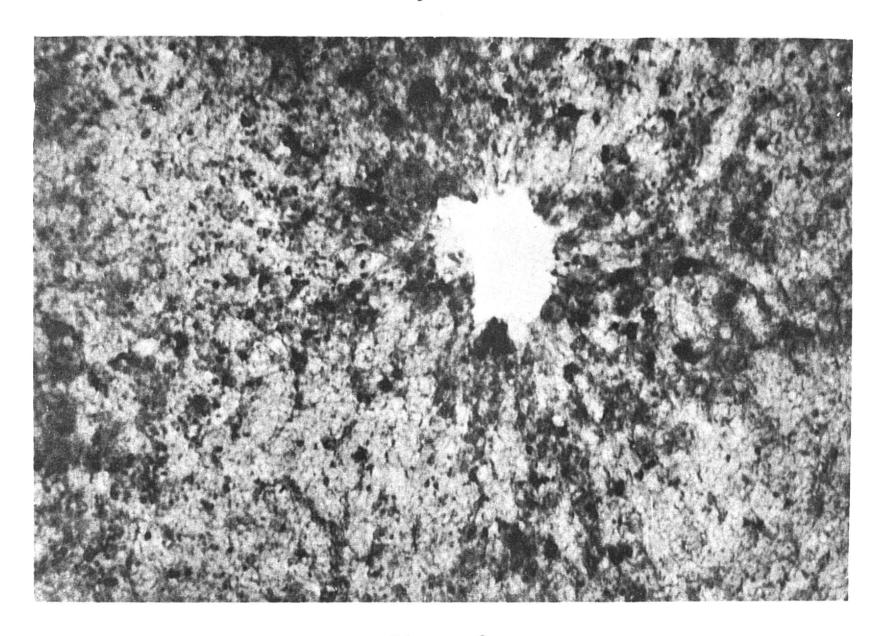


Figura 2.

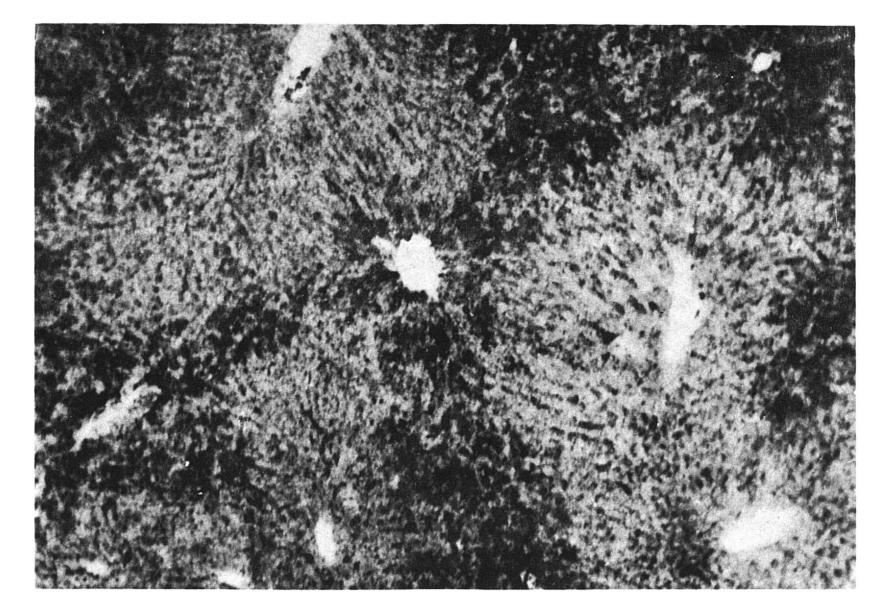


Figura 3.

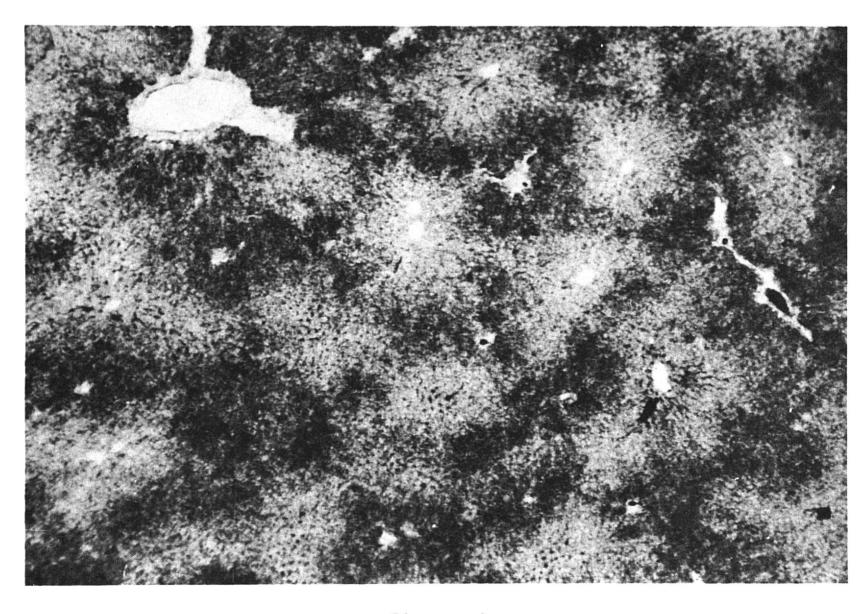


Figura 4

TABLA 2

Composición de dietas elaboradas a base de masa y de frijol cocido 1,2

Dieta Nº	Tortilla %	Masa g. N.	Frijol Cocido %	Frijol Cocido g. N.	Masa %	Frijol cocido Nitrógeno	N. Total g. %
1	87.00	1.150			100	0	1.15
2	69.59	0.920	7.33	0.230	80	20	1.15
3	60.89	0.805	11.00	0.345	70	30	1.15
4	52.19	0.690	14.67	0.460	60	40	1.15
5 .	43.50	0.575	18.34	0.575	50	50	1.15
6	34.79	0.460	22.00	0.690	40	60	1.15
7	17.40	0.230	29.34	0.920	20	80	1.15
8			36.67	1.150	0	100	1.15

- 1. Contenido de nitrógeno de la masa, 1.322%; contenido de nitrógeno del frijol cocido, 3.136%.
- 2. Las mezclas de masa y de frijol cocido fueron suplementadas con 4% de minerales; 2% de celulosa; 2% de aceite de hígado de bacalao; 5% de aceite de algodón; almidón en cantidades suficientes para 100 g. y vitaminas (38) (5 ml. de solución/100 g. de dieta).

INCAP, y para los estudios realizados con arroz y frijol cocido, ratas importadas del tipo Charles River, debido a que la producción de la colonia del Instituto no era suficiente para suministrar el número total de animales requeridos para estas investigaciones.

En los estudios con arroz y frijol, al igual que en los realizados con masa y frijol, se prepararon 8 dietas según se describen en la Tabla 3, las que se suplementaron con 2% de aceite de hígado de bacalao, 5% de aceite de algodón, 5% de sales minerales, y almidón en cantidades suficientes para completar 100 gramos de dieta. Las vitaminas se agregaron en la forma ya descrita. Los animales se alojaron en jaulas individuales de alambre con fondos elevados de tela metálica, registrándose las cifras de aumento de peso y de alimento consumido, cada 7 días. Las ratas tuvieron agua disponible durante todo el tiempo que duró el experimento.

La duración de los ensayos hechos con ratas jóvenes en el proceso de crecimiento fue de 4 semanas, al cabo de las cuales los animales fueron sacrificados y el hígado disectado y analizado para determinar su contenido de humedad, nitrógeno y extracto etéreo (grasa). Un pequeño fragmento de hígado fue fijado en solución neutra de formol al 10% para ser estudiado histopatológicamente. Se emplearon las coloraciones Sudán IV, hematoxilina-eosina, y coloración de Gomori para las fibras de reticulina. Los depósitos de grasa que fueron observados histopatológicamente en el hígado fueron después clasificados arbitrariamente en 4 grados:

- Grado 0: Cuando no existía ningún material Sudanofílico (Figura 1).
- Grado I: Cuando se observaban algunas células hepáticas conteniendo depósitos de grasa, en su mayor parte de distribución periportal (Figura 2).
- Grado II: Cuando el depósito de grasa era mayor pero siempre de distribución periportal (Figura 3).
- Grado III: Cuando el cambio grasiento era más severo y difuso; aunque difuso, todavía más severo en la región periportal del lobulillo (Figura 4).

TABLA 3

Composición de dietas elaboradas a base de frijol cocido y de arroz 1,2

Dieta No	Arroz %	Arroz g. N.	Frijol Cocido %	Frijol Cocido g. N.	Arroz %	Frijol Cocido Nitrógeno	N. Tota
l · a	89.00	0.980			100	0	0.98
2 - a	71.20	0.784	5.93	0.196	80	20	0.98
3 - a	62 .40	0.686	8.90	0.294	70	30	0.98
4 - a	53.40	0.588	11.89	0.392	60	40	0.98
5 - a	44.50	0.490	14.86	0.490	50	50	0.98
6 - а	35.60	0.392	17.82	0.588	40	60	0.98
7 - a	17.80	0.196	23.80	0.784	20	80	0.98
8 - a			29.70	0.980	0	100	0.98

- 1. Contenido de nitrógeno del arroz, 1.10%; contenido de nitrógeno del frijol cocido, 3.3%.
- 2. Las mezclas de arroz y de frijol cocido fueron suplementadas con 4% de minerales; 2% de aceite de hígado de bacalao; 5% de aceite de algodón; almidón en cantidades suficientes para 100 g. y vitaminas (38) (5 ml. de solución/100 g. de dieta).

Además de los estudios de crecimiento, se determinó el valor proteico de las mezclas de frijol y de tortilla, usando el método de depauperación-repleción de las reservas proteicas. Para el caso se usaron ratas adultas tipo Wistar que pesaban alrededor de 200 gramos cada una. Los animales fueron alimentados con una dieta libre de proteína hasta que se obtuvo una pérdida de peso igual al 25% del peso inicial. La dieta libre de proteína estaba compuesta de 86% de almidón, 5% de sales minerales, 5% de aceite de algodón, 2% de aceite de hígado de bacalao, y 2% de celulosa. y se suplementó con vitaminas, según se indicó anteriormente. Al perder los animales el equivalente del 25% de su peso inicial, se dividieron en lotes de 6 ratas por grupo, de tal manera que en cada grupo quedaran 3 hembras y 3 machos con un peso promedio inicial igual en todos los casos. Al llegar a este punto del experimento, a los animales se les administraron las dietas de frijol cocido y masa o de frijol cocido y arroz durante períodos de 14 y de 21 días, como se detalla en la sección titulada "Resultados". Las dietas usadas en estos estudios de depauperación y repleción fueron las que se describen en las Tablas 2 y 3. En los estudios realizados con las mezclas de frijol cocido y de arroz se usaron ratas adultas hembras tipo Charles River, cuyo peso promedio era de 200 gramos. La alimentación y el cuidado a que estuvieron sujetos los animales en estos experimentos fueron los mismos detallados en el estudio de crecimiento ya mencionado. Además de estos ensayos se realizó también una prueba empleando el método de depauperación-repleción, en cuyo caso se usaron las dietas 4 (masa y frijol) y 4-A (arroz y frijol) suplementadas con los aminoácidos que se creía eran más limitantes de acuerdo con los análisis de los alimentos. Las dietas empleadas y los aminoácidos agregados se describen en la sección correspondiente a esta fase del estudio.

IV. RESULTADOS

A. COMPOSICION QUIMICA

En la Tabla 1 figuran los resultados de la composición química de los materiales usados en los estudios biológicos. En lo que a proteína se refiere, se puede notar que el contenido proteico del frijol es el doble que el del maíz o el de la masa de maíz, y alrededor de tres veces mayor que el del arroz. El maíz crudo y la masa contienen mayores cantidades de extracto etéreo que el frijol crudo o cocido y que el arroz; en cambio, en cuanto a fibra cruda, el frijol crudo o cocido contiene mayores cantidades que los otros dos alimentos.

B. CONTENIDO DE AMINOACIDOS

El contenido de aminoácidos esenciales de los materiales, tanto crudos como cocidos, se presenta en las Tablas 4 y 5. Los aminoácidos aparecen expresados en gramos de aminoácido por 100 gramos de alimento y en gramos de aminoácido por gramo de nitrógeno. Al comparar el contenido de aminoácidos del maíz crudo con el de la masa, expresado en gramos de aminoácido por gramo de nitrógeno, se observan pequeños cambios que posiblemente no sean significativos. En el maíz crudo se encontró 0.262 gramos de arginina por gramo de nitrógeno, mientras que en la masa la cifra fue de 0.242 gramos del mismo aminoácido por gramo de nitrógeno. En el caso del triptofano, se encontró 0.032 y 0.028 gramos por gramo de nitrógeno en el maíz crudo y en la masa, respectivamente. No se observaron otros cambios que merezcan mencionarse, en el contenido de aminoácidos del material; en realidad, los resultados fueron similares a los reportados por Bressani y Scrimshaw (8).

En el caso del contenido de aminoácidos del frijol crudo y del cocido, en base de gramo de aminoácido por gramo de nitrógeno, los cambios fueron de mayor magnitud. En general,

TABLA 4

Composición de aminoácidos esenciales de materiales usados en ensayos biológicos.

	M	aíz	Tor	tilla	Ar	roz	FAO*	Pun	taje
Aminoácidos	g. %	g./g.N	g. %	g./g.N	g. %	g./g.N	g./g.N	Tortilla	Arroz
Arginina	0.384	0.262	0.318	0.242	0.580	0.530			
Histidina	0.339	0.231	0.330	0.249	0.224	0.204			
Isoleucina .	0.312	0.213	0.300	0.227	0.370	0.336	0.270	84	
Leucina	0.840	0.572	0.762	0.575	0.542	0.493	0.306		
Lisina	0.185	0.126	0.182	0.138	0.289	0.263	0.270	51	97
Metionina	0.168	0.114	0.158	0.119	0.235	0.214	0.270	72	
Cistina	0.110	0.075	0.100	0.076	0.087	0.079	0.270	12	
Fenilalanina	0.405	0.276	0.358	0.271	0.370	0.336	0.180		
Tirosina	0.292	0.199	0.257	0.195	0.536	0.487	0.180		
Treonina	0.314	0.214	0.302	0.228	0.252	0.229	0.180		
Triptofano .	0.047	0.032	0.037	0.028	0.086	0.078	0.090	31	87
Valina	0.412	0.281	0.392	0.297	0.424	0.386	0.270		

^{*} Valores de aminoácidos que contiene la Proteína de Referencia de la FAO. (41)

TABLA 5

Composición de aminoácidos esenciales de materiales usados en ensayos biológicos.

	Frijol	Crudo	Frijol	Cocido	FAO*	
Aminoácidos	g. %	g./g. N	g. %	g./g.N	g./g.N	Puntaje
Arginina	1.209	0.408	1.215	0.387		
Histidina	0.722	0.244	0.758	0.242		
Isoleucina	1.084	0.366	1.097	0.350	0.270	
Leucina	0.842	0.285	0.859	0.274	0.306	90
Lisina	1.730	0.584	1.780	0.567	0.270	
Metionina	0.259	0.083	0.260	0.083	0.270	47
Cistina	0.135	0.045	0.132	0.043	0.270	41
Fenilalanina	1.065	0.360	1.000	0.338	0.180	
Tirosina	0.536	0.181	0.164	0.171	0.180	
Treonina	0.877	0.296	1.040	0.331	0.180	
Triptofano	0.238	0.080	0.240	0.076	0.090	84
Valina	1.460	0.049	1.620	0.516	0.270	

^{*} Valores de aminoácidos que contiene la Proteína de Referencia de la FAO. (41)

todos los aminoácidos se encontraron en menor cantidad en el frijol cocido, observándose que la cantidad fue alrededor de un 5% más baja que en el frijol crudo. La pérdida combinada de metionina-cistina fue del 10%, hecho que es de importancia si se considera que es sabido que el frijol es deficiente en los aminoácidos que contienen azufre (3,6,12,33,49). Otro cambio importante que ocurrió fue la pérdida de 5% de triptofano, que es el segundo aminoácido limitante. Los aminoácidos histidina, treonina y valina no sufrieron alteraciones. La composición de aminoácidos esenciales de la proteína del arroz resultó ser similar a la que han reportado otros investigadores (42).

Al examinar los datos se observa que el maíz crudo y la masa contienen las cantidades más bajas de lisina, en comparación con el frijol crudo y cocido y con el arroz crudo, siendo estas cifras de 0.126, 0.138, 0.584, 0.567 y 0.263 g/g de nitrógeno, respectivamente. Tanto el frijol crudo o cocido como el arroz contienen cantidades similares de triptofano, mientras que el maíz crudo y la masa contienen, comparativamente, menos de la mitad; las cifras fueron de 0.030, 0.076, 0.073, 0.032 y 0.028 g/g de nitrógeno para el frijol crudo y cocido, arroz (crudo), maíz y masa, respectivamente. En cuanto a metionina y cistina, el arroz contiene mayores cantidades de estos aminoácidos que el frijol crudo y el cocido y que el maíz crudo y la masa, siendo los valores correspondientes a metionina más cistina de 0.293, 0.133, 0.126, 0.189 y 0.195 g/g de nitrógeno, respectivamente. Se puede notar que el único aminoácido esencial abundante en el maíz y en la masa es la leucina.

De acuerdo a la Proteína de Referencia de la FAO, la tortilla contiene 31, 51, 72 y 84% de los niveles recomendados de triptofano, lisina, metionina e isoleucina, respectivamente. En el caso del arroz, la comparación del contenido de aminoácidos con la Proteína de Referencia indica que este alimento contiene el 87 y 97% de las cifras recomendadas para el triptofano

y para la lisina, respectivamente. En cuanto al frijol, la comparación indica que este alimento, en su forma cocida, contiene el 47% de metionina, el 84% de triptofano, y el 90% de leucina de los niveles recomendados por la FAO en su Proteína de Referencia.

C. COMBINACIONES DE MASA Y DE FRIJOL COCIDO

1. Estudios biológicos con ratas jóvenes. Se realizaron dos ensayos, los resultados del primero de los cuales se presentan en la Tabla 6. Se puede observar que la dieta a base de masa produjo un aumento de peso de 17 gramos en 28 días. Al agregar 7.33% de frijol cocido a la dieta, lo que equivale a 20% del nitrógeno total de la misma (1.15 g.%), se obtuvo un aumento de peso de 33 gramos en 28 días, es decir el doble del aumento observado al administrar solamente masa. Las ratas aumentaron 40 gramos de peso en 28 días al administrárseles la dieta de frijol (dieta 4) de la cual provenía 40% del nitrógeno, es decir que se observó una diferencia de 7 gramos más que en el caso de la dieta de frijol que aportaba 20% del nitrógeno. En los casos en que el 60, el 80 y el 100% del nitrógeno de la dieta provenía del frijol, los animales tuvieron un aumento de peso de 35, 22 y 2 gramos, respectivamente, en el mismo período de 28 días. Las tasas de eficiencia proteica calculadas del peso aumentado y la cantidad de proteína ingerida fueron paralelas al crecimiento observado, de tal manera que el mejor índice de eficiencia proteica (1.81) corresponde a la dieta 4, con la que se obtuvo un crecimiento de 40 gramos. En el caso de la dieta 4 el 60% del nitrógeno provenía del maíz y el 40%, del frijol cocido.

Los resultados del experimento 2 se presentan en la Tabla 6, siendo en general similares a los del primer ensayo. La adición de 20% del nitrógeno de la dieta en la forma de frijol cocido produjo casi el doble de aumento de peso en comparación con los experimentos en los que todo el nitrógeno provenía de la masa (Dietas 1 y 2). Al aportar el frijol cocido entre 30 y 40% del nitrógeno de la dieta, se observó un aumento de peso de 25 y 28 gramos, respectivamente; el 50 y 60% del nitrógeno de la dieta provenientes del frijol produjeron au-

TABLA 6

Crecimiento de ratas, índice de eficiencia proteica y eficiencia del alimento de mezclas de masa de maíz y de frijol cocido1.

Dieta	Pe	so Proi	nedio	Alimento	Pro	teína	Indice de E	iciencia
N_{δ}	inicial	final	aumento2	consumido	en la dieta	consumida	del alimento3	proteica4
g.	g.	g. ———	g.	g.	g. %	g.	13.76 8.42 7.30	
				Experim	ento Nº 1			
1	60	77	17	234	7.31	17.10	13.76	0.994
2	60	93	33	27 8	7.37	20.49	8.42	1.610
4	60	100	40	2 92	7.56	22.08	7.30	1.812
G	60	95	35	30 9	7.87	24.32	8.83	1.439
7	60	82	22	272	7.87	21.41	12.36	1.028
8	60	62	${f 2}$	237	7.87	18.65	118.50	0.107

1	67	7 9	12	235	7.75	18.21	19.58	0.658
2	67	94	27	277	7.82	21.66	10.26	1.246
3	67	9 2	25	269	7.56	20.34	10.76	1.230
4	68	96	28	301	7.87	23.69	10.75	1.182
5	67	97	30	293	7.32	21.45	9.77	1.399
6	67	104	37	314	7.44	23.36	8.49	1.584
7	67	90	23	302	7.44	22.47	13.13	1.024
8	67	68	1	216	7.25	15.66	216.00	0.064

- 1. El experimento tuvo una duración de 28 días.
- 2. Promedio de aumento de peso de seis ratas por grupo; tres hembras y tres machos.
- 3. Indice de eficiencia del alimento: alimento consumido/aumento de peso.
- 4. Indice de eficiencia proteica: aumento de peso/proteína consumida.

mentos de 30 y 37 gramos de peso corporal en 28 días, respectivamente. Como en el caso del experimento 1, cuando el frijol aportó cantidades de nitrógeno por arriba del 60% del nitrógeno total, también se observó un menor aumento de peso. Las tasas de eficiencia proteica fueron paralelas a las tasas de crecimiento observadas. En los dos experimentos el 100% del nitrógeno de la dieta provista en forma de masa produjo mejor crecimiento y mejor eficiencia proteica que cuando el nitrógeno total de la dieta provenía sólo del frijol.

2. Experimentos de depauperación y repleción proteica realizados con ratas adultas. Los resultados de los dos experimentos llevados a cabo con ratas adultas, siguiendo el método de depauperación-repleción, se presentan en la Tabla 7. Cabe mencionar que las dietas usadas en estos estudios fueron las mismas que se administraron en los ensayos de crecimiento.

La repleción proteica de las ratas en el primer experimento muestra que la dieta a base de sólo masa fue más eficiente que la de frijol cocido solamente (dieta 1 vs. dieta 8), observándose con la primera un aumento de peso de 33 gramos en 14 días, en comparación con sólo 17 gramos de aumento que los animales acusaron en el mismo período de tiempo con la dieta de sólo frijol. Las dietas 2 y 7 produjeron un aumento de peso similar de 38 y 36 gramos, respectivamente, contribuyendo la masa con 30% y el frijol con 70% de la proteína de la dieta en la ración 2, y con 20 y 80% de la proteína en la dieta 7. El aumento de peso observado con las dietas 3, 4, 5 y 6, o sea aquellas en que la masa proporcionaba 70, 60, 50 y 40% de la proteína de la dieta y el frijol aportaba las cantidades suplementarias, fue de 40, 43, 44 y 44 gramos en 14 días, respectivamente.

Los resultados del segundo ensayo también se presentan en la Tabla 7. Estos indican una vez más que la masa (dieta 1) produjo una mejor repleción de los animales que el frijol (Dieta 8), presentando aumentos de peso de 38 y 10 gramos, respectivamente, en 14 días. Al estar la proteína de la dieta formada de 80 y 20, 70 y 30, 60 y 40, 50 y 50, 40 y 60% de proteína de masa y de frijol, respectivamente, se obtuvo en esencia el mismo aumento de peso durante el período de repleción, siendo las cifras de 47, 48, 48, 47 y 46 gramos. En cuanto a la dieta 7, que consistió en 20% de nitrógeno proveniente de la masa y 80% del frijol cocido, ésta produjo únicamente 29 gramos de aumento de peso.

3. Análisis químico del hígado de ratas jóvenes usadas en los experimentos de crecimiento. El contenido de humedad y de grasa de los hígados de las ratas—hembras y machos—

TABLA 7

Repleción de ratas adultas depauperadas de proteínas con mezclas de masa de maíz y de frijol cocido1.

			Peso Pr	omedio		Consumo de alimen
		fi	nal	aum	ento	promedio
Dieta	inicial	14 días	21 días	14 días	21 días	21 días
 N₀	g.	g	g.	g.	g.	g.
			Experimento	Nº 1		
1	133	166	173	33	40	_
2	132	170	181	38	49	
3	132	172	178	40	16	_
4	132	175	179	43	47	_
5	132	176	183	44	51	
б	133	177	188	44	55	_
7	134	170	178	36	44	
8	132	149	153	17	21	
			Experimento	Nº 2		
1	156	194	206	38	50	338
2	157	204	216	47	5 8	355
3	158	205	215	48	57	357
4	156	204	216	48	60	356
5	157	· 204	217	47	60	356
6	158	204	218	46	60	349
7	156	185	195	2 9	3 9	344
8	158	168	172	10	14	252

del primer experimento de crecimiento, se presenta en la Tabla 8. Puede notarse que hubo una pequeña acumulación de grasa en los hígados de las ratas alimentadas con 100% de las proteínas contribuidas por la masa, cifras que fueron de 12.7 y 14.2% para los machos y para las hembras, respectivamente. Conforme la contribución proteica del frijol cocido aumentaba en la dieta, se encontró que también la grasa hepática aumentaba, alcanzando un valor máximo de 25.9 y 19.7% en los machos y las hembras, respectivamente, cuando el frijol aportaba el 60% de las proteínas de la dieta. Sin embargo, cuando la contribución proteica del frijol cocido de la dieta fue de 80 y de 100%, se notó que la deposición de grasa disminuyó tanto en las hembras como en los machos a 15.2 y 20.0% con la dieta 7 y a 12.2 y 17.6% con la dieta 8, o sea la dieta cuyo contenido total de proteína provenía del frijol cocido. El peso de los hígados de las ratas de ambos sexos siguió de cerca el peso corporal de los animales y no se encontró ninguna tendencia significativa en este sentido.

Los resultados del segundo experimento se presentan en la Tabla 9. En este ensayo, los niveles de grasa no fueron tan elevados como en el primero (Tabla 8); sin embargo, la grasa estuvo ligeramente elevada y siguió la tendencia ya descrita.

TABLA 8

Peso, contenido de agua y de grasa de hígados de ratas alimentadas con mezclas de masa y de frijol cocido.

	Protei	na		Peso p	romedi	0	Hum	edad		do de g	rasa en el	hígado	Peso del hí-		
Dieta	prove	niente	ra	tas	híga	ado	en el h	en el hígado		$\mathbf{g.l}$	g./100	$\mathbf{g.2}$	gado/p	eso de	
	de la r y del f		8	g.	g.		g. %						rata x 100		
	%	%	M	F	<u>M</u>	F	M	F	M	F	<u> </u>	F	M	F	
1	100	0	78	77	3.6	4.1	68.6	68.3	4.0	4.5	12.7	14.2	4.6	5.3	
2	80	20	88	97	4.0	4.6	67.4	65.4	5.8	4.9	17.8	14.2	4.6	4.7	
4	60	40	106	94	5.7	4.3	66.1	68.1	8.3	5.0	24.5	15.7	5.4	4.6	
6	-10	60	105	85	4.8	4.1	66.8	68.5	8.6	6.2	25. 9	19.7	4.6	4.8	
7	20	08	85	79	4.7	3.9	69.5	67.2	6.1	5.0	20.0	15.2	5.5	4.9	
8	0	100	63	62	3.3	2.9	70.5	69.7	5.2	3.7	17.6	12.2	5.2	4.7	

^{1.} En estado húmedo.

TABLA 9

Peso, contenido de agua, grasa y proteína de los hígados de ratas alimentadas con mezclas de masa y de frijol cocido.

Dieta	Prot	enien		-	promed			edad			grasa en e	•	Conte de n	itró-	Peso o	
Vò	de la y del			tas g.	híga g			igado %	g./10) g.1	g./100	g.2	gen g./100		_ , .	peso de x 100
	% 	%	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
1	100	0	88	70	3.9	3.4	68.0	68.3	4.4	3.9	13.63	12.22	7.74	7.31	4.4	4.9
2	80	20	94	95	4.3	5.1	67.7	67.4	5.4	4.7	16.90	14.50	7.29	6.77	4.6	5.4
3	70	30	103	81	5.0	4.2	68.5	68.9	4.6	4.4	14.00	14.00	7.28	8.44	4.9	5.2
1	60	40	73	84	5.0	4.4	70.6	69.3	4.2	4.2	14.33	13.82	8.78	8.86	6.8	5.2
5	50	50	108	95	4.8	3.8	68.9	69.1	4.2	4.5	13.68	14.44	8.54	9.08	4.4	4.0
6	40	60	115	87	4.5	4.2	68.4	69.8	4.7	5.0	14.98	16.47	8.00	9.11	3.9	4.8
7	20	08	95	84	4.2	4.0	69.9	70.5	4.5	5.0	15.08	17.11	8.48	8.20	4.4	4.8
8	0	100	74	63	3.8	3.1	72.1	72.0	4.4	4.0	15.87	14.47	9.36	9.00	5.1	4.9
9*		_	155	168	8.0	8.5	68.6	63.4	3.6	3.4	11.50	10.80	10.50	9.65	5.6	6.0

^{1.} En estado húmedo.

^{2.} En estado seco.

^{2.} En estado seco.

^{*} Ace-Hi.

Todos los resultados de los ensayos hechos con masa y frijol cocido aparecen resumidos gráficamente en la Figura 5.

4. Estudio histopatológico del hígado de ratas jóvenes sujetas a dietas elaboradas a base de masa y de frijol cocido. No se observó ninguna alteración en la arquitectura hepática, y los hepatocitos estaban normales excepto por el cambio grasiento a describir. Los espacios porta no presentaban evidencia de proliferación de fibras de reticulina. Los depósitos de grasa se encontraron en todas las ratas incluidas en el estudio, aun cuando éstos fueron más severos en los animales alimentados con las dietas 4, 5 y 6 en que el frijol aportaba 40, 50 y 60% de las proteínas totales de la dieta. Los depósitos de grasa observados en estos animales eran en general de distribución periportal y las células hepáticas mostraban cambio grasiento de "gota fina", excepto en los casos en que el depósito era mayor y entonces era de tipo "gota gruesa". Los hallazgos histopatológicos concordaron con los resultados de los estudios químicos sobre el contenido de grasa.

D. COMBINACIONES ENTRE ARROZ Y FRIJOL COCIDO

1. Estudios de crecimiento de ratas. Los resultados de estos estudios se presentan en la Tabla 10. Los animales alimentados con la dieta 1-A (100% proteína de arroz) obtuvieron un aumento de peso corporal de 40 gramos en 28 días, con un índice de eficiencia proteíca y de utilización del alimento de 2.3 y 6.95, respectivamente. Al substituir 20, 30, 40 y 50% de la proteína del arroz por proteína del frijol cocido, los animales bajo experimento obtuvie-

TABLA 10

Crecimiento de ratas, indice de eficiencia proteica y eficiencia del alimento de mezclas de arroz y de frijol cocidol

	Pes	o Prom	edio2	Alimento	Pro	teína	Indice de Eficiencia		
Dieta	inicial	final	aumento	consumido	en la dieta	consumida	del alimento l	proteica5	
No.	g.	g.	g.	g.	g. %	g.			
l - a	52	92	40	278	6.2	17.23	6.950	2.3	
2 - a	52	103	51	287	6.4	18.35	5.627	2.7	
3 - a	52	104	52	296	6.4	18.96	5.692	2.7	
-1 - a	52	105	53	314	6.6	20.76	5.924	2.6	
5 - a	52	103	51	299	6.4	19.1 2	5.863	2.6	
б-а	52	90	38	251	6.6	16.58	6.605	2.3	
7 - a	52	70	18	202	6.6	13.35	11.220	1.3	
8 - a	52	48	-4	140	6.5	9.10			
9 - a3	52	131	79	285	8.1	23.09	3.610	3.4	

^{1.} El experimento tuvo una duración de 28 días.

^{2.} Promedio de aumento de peso de seis ratas por grupo.

^{3. 9%} de caseína en la dieta (31).

^{4.} Indice de eficiencia del alimento: alimento consumido/aumento de peso.

^{5.} Indice de eficiencia proteica: aumento de peso/proteína consumida.

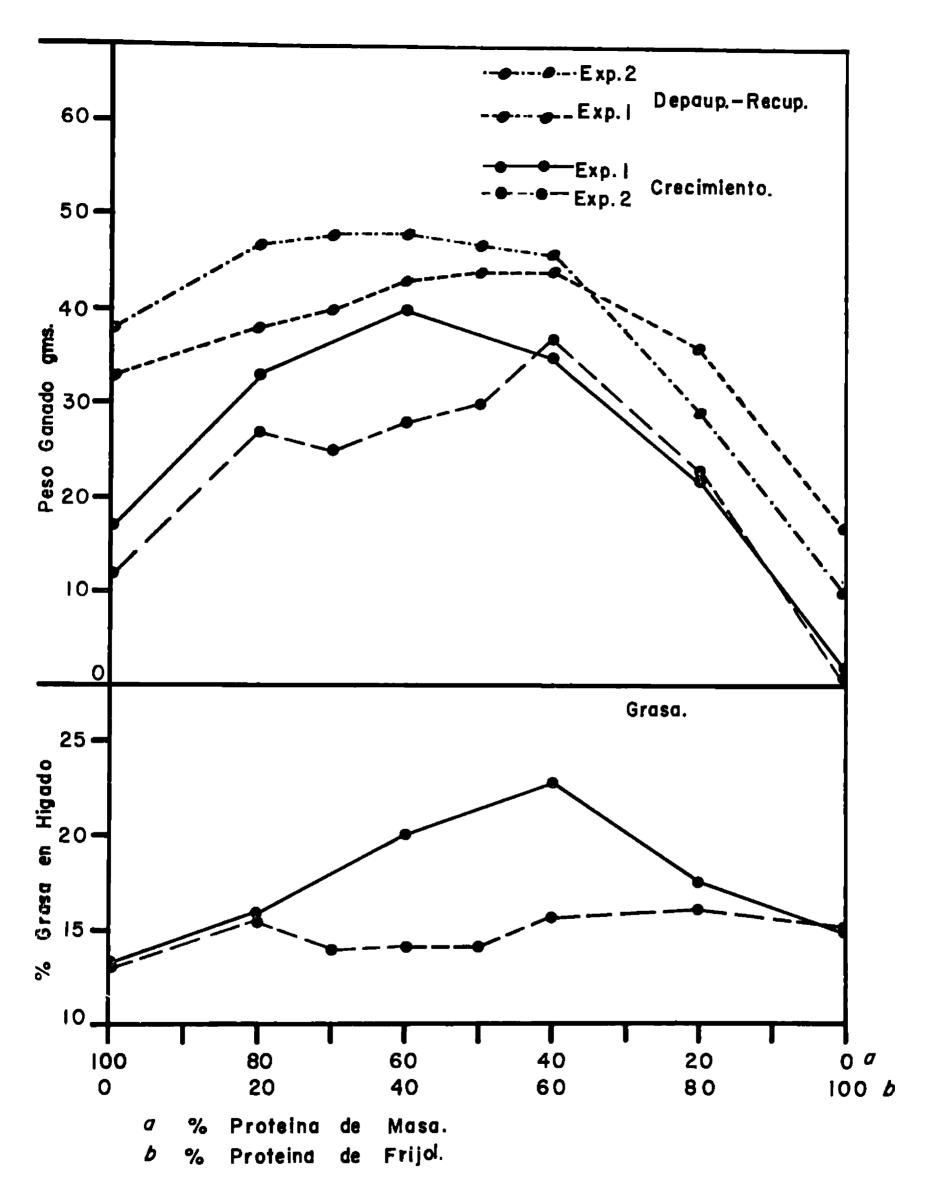
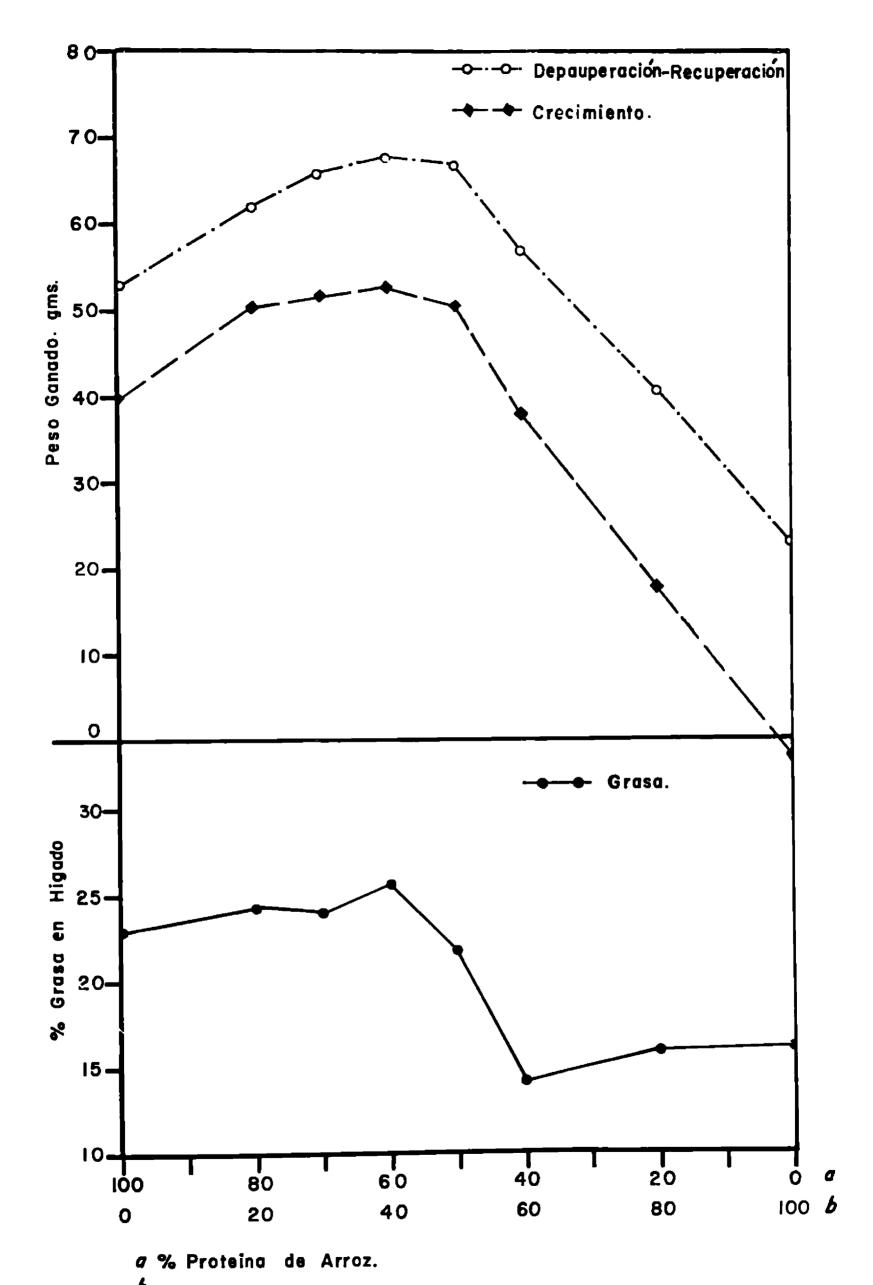


Figura 5. Resumen gráfico de los estudios hechos con masa de maíz y frijol cocido.



6 % Proteina de Frijol.

Figura 6. Resumen gráfico de los estudios hechos con arroz y frijol cocido.

ron un aumento de peso casi igual entre sí: 51, 52, 53 y 51 gramos, respectivamente. La tasa de eficiencia proteica en estos cuatro grupos fue de 2.7, 2.7, 2.6 y 2.6. Al aumentar la contribución proteica del frijol hasta el 60% del nitrógeno de la dieta (ración 6-A), el crecimiento observado fue de 38 gramos, con un índice de utilización proteica de 2.3. La inclusión de mayores cantidades de frijol en la dieta, que aportaban el 80 y 100% del nitrógeno de la ración, produjeron un crecimiento de 18 y 4 gramos en 28 días. Un grupo testigo que recibió una dieta en la cual toda la proteína provenía de 9% de caseína*, alcanzó 79 gramos de crecimiento en 28 días, con un índice de eficiencia proteíca de 3.4.

- 2. Estudios de depauperación y repleción proteica en ratas adultas alimentadas con dietas de frijol y arroz. Los resultados de este experimento aparecen en la Tabla 11. La dieta cuyo contenido total de nitrógeno provenía del arroz (dieta 1-A), produjo una recuperación proteica de 53 gramos de peso en 14 días. El aumento de peso en el caso de la dieta en la que el 80% del nitrógeno provenía del arroz y el 20% del frijol, fue de 62 gramos. Las dietas 3-A, 4-A y 5-A, en las que el arroz proporcionaba 70, 60 y 50% del nitrógeno de la ración, produjeron un aumento de peso similar entre sí, siendo éste de 66, 68 y 67 gramos, respectivamente. Al aumentar a 60, 80 y 100% del nitrógeno total la contribución proteica del frijol a la dieta, se pudo observar que las recuperaciones de peso en el término de 14 días sufrieron una disminución, teniendo como resultado aumentos de peso de 57, 41 y 23 gramos, respectivamente.
- 3. Análisis químico del higado de ratas jóvenes usadas en el experimento de crecimiento. El contenido de humedad, de nitrógeno y de grasa de los higados de las ratas jóvenes usadas

TABLA 11

Repleción de ratas adultas depauperadas de proteínas con mezclas de arroz γ de frijol cocido¹

	Pe	so Prome	dio Co	onsumo de alime	nto
Dieta	inicial	final	aumento	promedio	Eficiencia de
Νό		14 días			Alimentación2
	g.	g.	$\mathbf{g}.$	g.	
1 - a	170	223	53	278	5.24
2 - a	170	232	62	306	4.93
3 - a	171	237	66	300	4.54
4 - a	170	238	68	2 90	4.26
5 - a	171	238	67	301	4.49
6 - а	170	227	57	2 66	4.67
7 - a	171	212	41	251	6.12
8 - a	171	194	23	238	10.35

- 1. Promedio de aumento de peso de seis ratas por grupo.
- 2. Indice de eficiencia de alimento: alimento consumido/aumento de peso.

^{*} Test vitamin-free casein. Nutritional Biochemicals Corporation, Cleveland, Ohio, E.U.A.

en el estudio de crecimiento, se presentan en la Tabla 12. Se puede observar que la cantidad de grasa de los hígados de las ratas que recibieron las dietas en las que el arroz contribuyó con el 50 a 100% de las proteínas, en base seca, era alrededor de 23%, cifra similar a la obtenida con la dieta 9-A (dieta a base de 9% de caseína) conocida como dieta productora de hígados grasos (16,17,28,31). Cuando el nitrógeno proporcionado por el frijol se aumentó progresivamente de 0 a 100% del contenido total de nitrógeno de la dieta, se observó una disminución significativa de la cantidad de grasa depositada en el hígado. Al administrar la dieta 6-A, la cantidad de grasa fue de 14.2%, observándose un pequeño aumento con la dieta 7-A, de 15.9, y de 16.2% con la dieta 8-A o sea aquella en la que el frijol cocido aportaba toda la proteína. En cuanto al porcentaje de nitrógeno, se puede notar que éste fue similar en todos los hígados de las ratas estudiadas: de alrededor de 6.8% en los hígados de los animales alimentados con porcentajes de arroz que variaban de 100 a 50%, y con un aumento en el caso de las dietas 6-A, 7-A y 8-A o sea aquellas en que el nitrógeno provenía principalmente del frijol. En general, el nitrógeno siguió de cerca los cambios observados en la deposición de grasa en el hígado.

Todos los resultados de los ensayos hechos con arroz y frijol cocido aparecen resumidos gráficamente en la Figura 6.

4. Análisis histopatológico del hígado de ratas jóvenes sujetas a dietas elaboradas a base de arroz y de frijol cocido. No se observaron lesiones patológicas, a excepción del cambio grasiento del hígado. Este fue más severo en los animales a los que se les administró la dieta 9 productora de hígados grasos (16,17,28,31) y en los que recibieron dietas en las que el

TABLA 12

Peso, contenido de agua, grasa y proteína de los higados de ratas alimentadas con mezclas de arroz y de frijol cocido

	Prote	ina						Contenido	
Dieta	proven	iente	Peso p	romedio	Humedad	l Contenido	de grasa	de nitró-	Peso del
$oldsymbol{N}$ o	del arı	roz y	ratas	hígado	en el hígad	lo en el l	hígado	geno2	higado/peso
	del fr	ijol	g.	g.	g. %	g./100 g.1	g./100 g.2	g./100 g.	de rata x 100
	%	%							
1 - a	100	0	92	5.00	67.6	7.45	23.0	6.50	5.45
2 - a	80	20	103	4.75	67.9	7.80	24.3	6.83	4.61
3 - a	70	30	104	5.15	68.1	7.69	24.1	6.77	4.95
4 - a	60	40	105	4.89	67.3	8.37	25.6	6.93	4.66
5 - a	50	50	103	4.90	68.3	6.91	21.8	6.71	4.76
6 - a	40	60	80	4.16	70.2	4.23	14.2	7.88	5.20
7 - a	20	80	69	3.06	70.1	4.75	15.9	7.52	4.43
8 · a	0	100	49	2.38	71.5	4.62	16.2	7.52	4.86
9 - a		_	131	7.10	66.4	7.96	23.7	7.33	5.42

^{1.} En estado húmedo.

^{2.} En estado seco.

arroz contribuía con el 70, 60 y 50% de las proteínas, respectivamente. El estudio histopatológico concuerda, por lo tanto, con los hallazgos químicos mencionados. La grasa en los hígados más severamente afectados era de distribución difusa, aunque más notoria en la región periportal del lobulillo. El cambio grasiento era de "gota fina o gruesa".

No se observó ninguna diferencia entre los hígados de los animales sujetos a las dietas a base de arroz y frijol cocido y los de las ratas que recibieron masa y frijol cocido.

E. SUPLEMENTACION CON AMINOACIDOS

Suplementación de las dietas 4 (masa y frijol) y 4-A (arroz y frijol) con aminoácidos, administradas a ratas adultas depauperadas de proteína.

Las dietas 4 y 4-A consistentes en una combinación de masa y frijol y de arroz y frijol, respectivamente, fueron administradas durante los estudios preliminares de suplementación con aminoácidos. Se investigó, además, el efecto del agregado de metionina al frijol cocido, y los resultados obtenidos se compararon con una dieta a base de leche descremada al mismo nivel proteico y suplementada con metionina que es el aminoácido más limitante de la leche (39). Las dietas empleadas en este ensayo se detallan en la Tabla 13. Los resultados de la recuperación de peso observados en las ratas depauperadas de sus reservas proteicas se presentan en la Tabla 14.

La dieta 4, compuesta de masa y de frijol cocido, no mejoró nutricionalmente al agregársele metionina o metionina más lisina, ya que con la dieta no suplementada se obtuvo una recuperación de peso de 56 gramos, en comparación con 50 gramos obtenidos con la dieta 4 suplementada con metionina, y con 31 gramos al administrarse la dieta 4 suplementada con metionina más lisina. El efecto de las tres dietas también se aprecia al examinar los resultados de las tasas de eficiencia del alimento y de eficiencia de repleción proteica, cifras de 2.36 y 1.70 gramos de alimento y de proteína por gramo de aumento de peso con la dieta 4; de 2.42 y de 1.74 gramos con la dieta 4 más el agregado de metionina, y de 2.81 y 2.02 gramos con la dieta 4 suplementada con metionina más lisina.

La mezcla de arroz y de frijol cocido (dieta 4-A) produjo 71 gramos de aumento de peso. Al suplementar esta combinación con metionina, se obtuvo una recuperación de 79 gramos, la que no mejoró cuando la dieta fué suplementada con metionina y treonina, suplementación que produjo una recuperación de peso de 75 gramos. La adición de metionina, de treonina y de lisina a la dieta 4-A, sin embargo, tuvo como resultado una recuperación de peso de 83 gramos, cifra que es ligeramente más alta que la obtenida al agregar únicamente metionina. El efecto de la suplementación con los tres aminoácidos se puede apreciar más claramente si se estudian las tasas de eficiencia del alimento y recuperación proteica, las que no mejoraron significativamente al suplementar la dieta 4-A con metionina, lisina y treonina.

Es interesante observar que la combinación de masa más frijol cocido (dieta 4) es, en lo que a proteína se refiere, inferior a la mezcla de arroz y de frijol cocido (dieta 4-A); la primera no produjo una recuperación de peso o tasa de eficiencia de recuperación proteica tan buenas como la segunda, aunque la eficiencia de utilización del alimento fue similar en los dos casos.

De nuevo se puede observar el efecto beneficioso de la adición del cereal al frijol cocido al comparar la recuperación proteica obtenida en el caso de las ratas adultas alimentadas sólo con frijol cocido, con la que se obtuvo en el caso de los animales a los que se les administró frijol y masa o frijol con arroz. Las ratas alimentadas con frijol solamente, mostraron una recuperación de 9 gramos del peso corporal, mientras que aquellas que recibieron frijol y maíz (dieta 4) recuperaron 56 gramos de peso y las alimentadas con arroz más frijol (die-

ta 4-A). 71 gramos de peso. Las tasas de eficiencia de alimentación, así como de repleción proteica de las ratas alimentadas sólo con frijol fueron altas, necesitándose 8.77 gramos de alimento y 5.27 gramos de proteína de frijol para producir 1 gramo de aumento de peso en las ratas. La adición de metionina al frijol cocido mejoró en forma significativa el aumento de peso después de que los animales habían sido depauperados. Sin embargo, el peso recuperado fue inferior al obtenido con las dietas a base de frijol y masa o de frijol y arroz. Las ratas alimentadas con leche tuvieron una mejor utilización del alimento y el mayor índice de eficiencia de repleción proteica, cifras que fueron de 1.83 y de 1.10 gramos de alimento y de proteína por gramo de peso, respectivamente. La única dieta que se aproximó a estas cifras fue la de arroz con frijol cocido suplementada con metionina, lisina y treonina.

V. DISCUSION

Los resultados de los diferentes ensayos hechos con ratas jóvenes y adultas depauperadas de sus reservas proteicas, empleando tanto combinaciones de masa y de frijol cocido como de arroz y de frijol cocido, revisten interés e importancia desde el punto de vista de la nutrición humana. El efecto de crecimiento observado en los animales sujetos a los diferentes tratamientos podría explicarse en el caso de cada dieta, por la composición de aminoácidos esenciales que la integraron, cifras que para cada ración se detallan en las Tablas 15 y 16.

Los resultados de los estudios hechos con masa y frijol cocido, tanto en ratas jóvenes como en ratas adultas depauperadas de sus reservas proteicas indican, al comparar entre sí las dietas en las que toda la proteína provenía de la masa del maiz o del frijol cocido, que la primera de éstas produjo mejor crecimiento que el observado al administrar la dieta de frijol cocido en la que éste era el único contribuyente de proteína. Examinando la composición de aminoácidos esenciales del maíz o de la masa, y comparando éstos con la Proteína de Referencia de la FAO (41), se observa que el orden de deficiencia de aminoácidos en el maíz es: triptofano, lisina, e isoleucina. Al hacer la misma comparación en el caso del frijol cocido, se puede notar que el orden de deficiencia en lo que a aminoácidos esenciales se refiere es: metionina, triptofano y leucina. También es de interés tomar nota de que el grado de deficiencia en cuanto a aminoácidos esenciales es más marcado en el maíz o en la masa que en el frijol; sin embargo, este hecho, como única causa, no es suficiente para explicar el mejor crecimiento observado con la dieta de maíz que con la de frijol cocido y, según este hallazgo, se debe suponer que intervienen otros factores igualmente responsables de ese efecto. Entre tales factores se puede mencionar, en primer término, el balance global de aminoácidos de cada alimento; en segundo lugar, la disponibilidad de los aminoácidos; y por último, se puede llegar a la suposición de que la deficiencia de un aminoácido o de un grupo de aminoácidos es más importante para ciertos estados fisiológicos como son el crecimiento o la repleción proteica, que otros aminoácidos o grupos de éstos. Cualquiera de las tres posibilidades anotadas podría ser la explicación del mejor crecimiento y de la mejor recuperación del peso perdido que se observó al administrar la dieta en la que toda la proteína procedía del maíz en forma de masa.

Las deficiencias de los aminoácidos triptofano, lisina e isoleucina en el maíz crudo y en la masa, y su corrección por medio del agregado de los mismos han sido ya demostradas mediante estudios biológicos hechos con ratas por Sauberlich (50, 51) y por otros investigadores (25, 43, 44), así como por medio de los estudios de balance de nitrógeno llevados a cabo por Scrimshaw y colaboradores (9,52). El número de investigaciones similares realizadas con frijol ha sido limitado, a pesar de que Jaffé (33), Breese, Jones y Murphy (6), Banergee y colaboradores (3) y otros autores (4,49,60) han indicado que en esta semilla la metionina es el aminoácido más limitante.

TABLA 13

Composición de dietas usadas en estudio de depleción repleción de dieta Nº 4 de masa-frijol y frijol-arroz suplementadas con aminoácidos.1

	1	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
Masa	48.70	48.70	48.70							
Frijol Cocido	13.80	13.80	13.80	11.72	11.72	11.72	11.72	28.80	28.80	
Arroz				49.80	49.80	49.80	49.80			
Leche en polvo										18.20
Minerales	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
Aceite de Hígado de Bacalao	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
Aceite de Algodón	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
Celulosa										2.00
DL-Metionina		0.15	0.15		0.15	0.15	0.15		0.20	0.10
DL-Treonina						0.10	0.10			
L-Lisina HCL			0.10				0.10			
Almidón	26.50	26.35	26.25	27.18	27.33	27.33	27.13	60.20	60.00	68.70

TABLA 11

Repleción de ratas adultas depauperadas de proteinas con las dietas 4 (masa y frijol cocido),

4a (arroz y frijol cocido) y con frijol cocido suplementadas con aminoácidos

	Proteina	Pes	o promed	lio			
	en la dieta	inicial	final 14 días	aumento	alimento ingerido	Indice de efi del alimentol	
	g. %	g.	g.	g.	g.		proteica2
Masa + frijol	-			_			
cocido (Nº 4)	7.20	150	206	56	1320	2.36	1.70
Nº 4 + metionina	7.20	150	200	50	1211	2.42	1.71
Nº 4 + metionina							
+ lisina	7.20	150	181	31	870	2.81	2.02
Arroz + frijol							
cocido (Nº 4a)	6.12	150	221	71	1650	2.32	1.42
No la + metionina	6.12	150	229	79	1709	2.16	1.33
No la + metionina							
+ treonina	6.12	150	225	75	1616	2.15	1.32
Nº 4a + metionina							
+ treonina + lisina	6.12	150	23 3	83	1642	1.98	1.21
Frijol cocido		150	159	9	790	8.77	5.27
Frijol cocido							
+ metionina	6.00	150	194	44	1159	2.63	1.58
Leche descremada							
+ metionina	6.00	150	216	66	1207	1.83	1.10

^{1.} Alimento ingerido/aumento de peso.

Contenido de Aminoácidos esenciales de las diferentes dietas elaboradas a base de tortilla y de frijol cocido. (1)

(Aminoácidos totales en mg.)

Dieta Nº	1	2	3	4	5	6	7		roteína de leferencia FAO
Porcentaje de proteína contri- buida por torti- lla y frijol	100-0	80-20	70-30	60-40	50-50	40-60	20-80	0-100	
Arginina	278	312	329	345	362	378	412	415	
Histidina	286	235	283	283	282	281	280	278	
Isoleucina	261	290	301	318	331	346	374	402	310
Leucina	661	592	558	52 3	489	453	384	313	352
Lisina	159	257	307	356	405	454	551	652	310
Metionina)	137	128	125	120	116	112	103	95	
}	(224	(203)	(201)	(192)	(185)	(177)	(160)	(144)	310
Cistina	87	80	76	72	69	65	57	49	
Fenilalanina .	312	327	335	343	350	358	373	389	
}	(536	(545)	(551)	(556)	(560)	(566)	(576)	(586)	207
Tirosina	224	218	216	213	210	208	203	197	
Treonina	262	286	2 98	303	321	333	356	381	207
Triptofano	32	43	49	54	60	66	76	87	104
Valina	342	392	417	442	468	493	543	5 93	310

⁽¹⁾ El contenido de nitrógeno de las dietas es 1.15 g./100 g.

TABLA 16

Contenido de aminoácidos esenciales de las diferentes dietas elaboradas a base de arroz y de frijol cocido. (1)

(Aminoácidos totales en mg.)

Dieta Nº	1	2	3	4	5	6	7	8	Proteína de Referencia FAO
Porcentaje de proteína contri- buida por arroz y frijol	100.0	80-20	70-30	60-40	50-50	40-60	20-80	0-100	
Arginina	519	492	478	464	450	436	403	379	
Histidina	200	207	211	215	219	222	230	237	_
Isoleucina	329	332	333	335	337	338	340	343	270
Leucina	483	440	418	397	376	354	313	26 9	306
Lisina	25 3	317	347	377	107	436	495	556	270
Metionina)	210	134	171	158	146	133	108	81	
}	(342)	(254)	(238)	(22 1) (206) ((190) ((158)	123) 270
Cistina	132	70	67	63	60	57	50	42	
Fenilalanina .	329	329	32 9	331	331	331	331	331	
}	(806)	(745)	(713)	((48F) (654)	(622)	(561)	499) 180
Tirosina	477	416	384	353	323	291	230	168	
Treonina	221	245	251	265	274	285	301	32 4	180
Triptofano	76	76	76	76	75	77	75	74	90
Valina	378	403	417	429	-112	451	479	506	270

⁽¹⁾ El Contenido de N de las dietas es 1 g./100 g.

La utilización de la proteína se puede ver afectada por el tipo de carbohidrato de la dieta (30,55). Sería de interés investigar si los carbohidratos del frijol son responsables en más alto grado que la deficiencia de metionina, del crecimiento inferior observado en los estudios que aquí se detallan. Sería interesante, asimismo, estudiar qué efecto ejerce la duración del tiempo de cocción sobre la capacidad del frijol para inducir un crecimiento igual o mejor que el obtenido con los cereales, pues en lo que a deficiencias de aminoácidos se refiere, el frijol es menos deficiente en este sentido que los cereales.

Ya que el maiz es deficiente en lisina y en triptofano, aminoácidos que el frijol contiene en cantidades adecuadas, se observaron mejoras en el crecimiento de ratas jóvenes y una mayor recuperación del peso perdido en las ratas adultas depauperadas en los casos en que parte del nitrógeno total de la dieta la aportó el frijol cocido. Sin embargo, la mejora de crecimiento y el aumento de peso corporal no fueron progresivos. Estos resultados se manifestaron cuando un 70% de las proteínas de la dieta provenían de la masa y el 30% del frijol, desapareciendo al proporcionar el frijol cocido un 60% de las proteínas y de la masa el 40%. En este grupo de Jietas la adición del frijol al maíz corrigió la deficiencia de lisina que tiene el grano, existiendo, sin embargo, deficiencias de otros dos aminoácidos. La primera fue la de metionina, que se hizo más marcada conforme aumentada la cantidad de frijol de la dieta, y la segunda, la de triptofano, aminoácido que disminuye a medida que aumenta el contenido de frijol de la dieta. Aunque existan deficiencias de aminoácidos esenciales, es posible que el balance global de todos no sea tan desproporcionado, permitiendo un índice aceptable de crecimiento de los animales. Si el nivel ya marginal de uno de los dos aminoácidos deficientes disminuye, es de esperar que haya poco crecimiento, hecho que se hizo evidente en las dietas en que el 80% y el 100% del nitrógeno provenían del frijol; en el caso de estas dos últimas dietas la deficiencia de metionina fue marcada, siendo también deficientes otros aminoácidos entre los cuales cabe citar la leucina.

Los resultados de los estudios hechos con combinaciones de arroz y de frijol cocido fueron, en general, parecidos a los que se obtuvieron usando masa y frijol, pudiendo argüirse las mismas razones para explicar los efectos observados. Por la composición de aminoácidos del arroz se nota que su deficiencia mayor es la de lisina; se observa también que este cereal contiene cantidades adecuadas de metionina, el aminoácido en el cual es deficiente el frijol. Por consiguiente, la complementación se debe efectuar hasta el momento en que el balance global de aminoácidos sea desproporcionado, para mantener así un buen crecimiento o una recuperación de peso adecuada. El balance global inadecuado ocurre cuando el frijol de la dieta contribuye con el 50% de las proteínas. La leucina tiende a ser limitante conforme el contenido de frijol de la dieta aumenta, y la deficiencia de triptofano disminuye a medida que se agregan mayores cantidades de frijol a las dietas de experimentación. De Castro y Pecknic (13) dieron cuenta de efectos similares de crecimiento observados en animales a través de estudios parecidos, hechos con maíz y leche, habiendo observado que la combinación de estos dos alimentos tenía un valor proteico mejor que cualquiera de los dos ingredientes por sí solos. Fekete y Korpaczy (18) también notificaron efectos similares en sus estudios de combinaciones de harina de trigo, maíz, proteína de huevo y harina de torta de semilla de girasol, observando que las combinaciones demostraban ser mejores que los ingredientes administrados por sí solos.

Los datos obtenidos sobre el contenido de grasa del hígado son indicativos del balance de aminoácidos de la dieta (16,17,28,29,31), ya que se ha demostrado que las proporciones relativas así como las cantidades de aminoácidos empleadas en la dieta, son factores importantes que afectan la deposición de grasa en el hígado de ratas alimentadas con dietas de bajo contenido proteico y que contienen cantidades adecuadas de otros factores lipotrópicos tales como la colina (28). En los experimentos hechos con masa y con frijol cocido, la acumula-

ción de grasa en el higado de las ratas fue poca, sobre todo en el segundo experimento realizado con ratas jóvenes. En los experimentos en que se usó arroz y frijol cocido, los hígados de los animales demostraron contener cantidades significativas de grasa en relación con lo normal. En ambos estudios se pudo notar que la mayor acumulación de grasa en el higado tuvo lugar al usar las dietas con las cuales se obtuvo mejor crecimiento; los valores de grasa disminuyeron conforme el crecimiento decrecía, aumentando ligeramente en el caso de las dietas a base de frijol solamente. Esta acumulación de grasa indica, por consiguiente, que las proporciones de aminoácidos de las dietas eran adecuadas para producir un mejor crecimiento pero no del todo adecuadas para movilizar la grasa del hígado. Recientemente se ha demostrado que una dieta de bajo contenido proteico y con desbalances de aminoácidos causa acumulación de grasa en el higado cuando la proteina es capaz de producir buen crecimiento. Este tipo de fenómeno se observa frecuentemente en los estudios nutricionales; si el crecimiento mejora en los animales que tienen deficiencias o desbalances no evidentes, tal efecto puede manifestarse claramente mediante alteraciones de carácter bioquímico y anatómico (16,17,28,29, 31,59). En los ensayos llevados a cabo con mezclas de arroz y de frijol se incluyó una dieta que contenía 9% de caseína, la que, se ha comprobado, es causante de higados grasos (31). Con esta dieta de caseína se obtuvo un crecimiento excelente, pero en el hígado hubo una gran acumulación de grasa, tan alta como la obtenida con las dietas de arroz en las que este cereal aportó de 50 a 100% de las proteínas. Estos resultados indican, por lo tanto, que las cantidades de aminoácidos de las dietas de masa y frijol y de arroz y frijol, eran adecuadas para producir buen crecimiento, pero no para movilizar la grasa acumulada en el hígado. Harper y colaboradores (29) y otros investigadores (14,45,48) han demostrado que en el hígado de ratas alimentadas con arroz se produce una acumulación de grasa, y que para evitar esa acumulación es necesario que la dieta contenga un total de 0.4% de lisina, con niveles bajos o altos (de 0.2 a 0.5%) de treonina. Los resultados de estos estudios sobre el efecto de la combinación de arroz y frijol en la deposición de grasa en el hígado demuestran que la concentración de grasa se redujo cuando la dieta contenía 0.4% de lisina o 436 mg. de lisina por gramo de nitrógeno. Este nivel de lisina corresponde a la dieta 6-A o sea aquella en la que el 40% de la proteína de la dieta provenía del arroz y el 60%, del frijol cocido. Sin embargo, la disminución de la grasa del hígado no se puede atribuir únicamente a la concentración de lisina en la dieta, ya que el crecimiento de los animales también disminuyó.

Los resultados de los estudios de suplementación de la dieta 4 (masa y frijol) y 4-A (arroz y frijol), aunque preliminares, suministran cierta información de importancia para la suplementación de estas dietas con otros alimentos. La adición de metionina y de metionina más lisina a la dieta de masa y frijol (Nº 4) produjo resultados inesperados que indican que otro u otros aminoácidos y no los que fueron motivo de ensayo son los más limitantes en esta dieta. En la mezcla de arroz y de frijol, la metionina y la lisina mejoraron la recuperación del peso perdido en los animales, por lo que sería de mucho interés llevar a cabo estudios con el propósito de establecer si estos aminoácidos son capaces de reducir la grasa acumulada en el hígado de las ratas jóvenes. De acuerdo con lo que otros autores (3,4,6,33,49,60) han informado, la metionina parece ser el aminoácido más limitante del frijol según lo demuestran los resultados de este ensayo.

Es necesario llevar a cabo nuevas investigaciones antes de que se pueda recomendar la mejor o mejores combinaciones entre los alimentos estudiados, ya que en el curso del estudio se puso de manifiesto que investigando el valor nutritivo de una mezcla, únicamente bajo el punto de vista de su capacidad para producir crecimiento, no constituye suficiente evidencia por existir todavía deficiencias de aminoácidos que, al ser corregidas, movilizarían la grasa acumulada en el hígado.

Los resultados son de mucho interés práctico ya que conociendo las proporciones óptimas entre los alimentos estudiados y sus deficiencias de aminoácidos, se pueden hacer recomendaciones en lo que respecta a otros alimentos que puedan suplir la deficiencia (s) de las mezclas de masa y frijol y de arroz y frijol. Una vez conocidos estos factores, tales combinaciones se podrían usar para la alimentación suplementaria de niños recién destetados o imposibilitados de recibir dietas más variadas en su alimentación diaria.

VI. RESUMEN

Se hizo una evaluación de la calidad proteica de mezclas de masa de maíz y frijol cocido y de arroz y frijol cocido por medio del análisis de los aminoácidos esenciales de los tres alimentos, así como por estudios biológicos con ratas alimentadas con los ingredientes por sí solos o combinados. Para el efecto se llevaron a cabo dos tipos de ensayos biológicos midiendo el valor proteico de las mezclas alimenticias en ratas jóvenes en el proceso de crecimiento y en ratas adultas depauperadas de proteína.

Se comparó el contenido de aminoácidos esenciales de los ingredientes en estado crudo y cocido, encontrándose que existían pequeñas diferencias en el mismo alimento en uno y otro estado. Al comparar el contenido de aminoácidos esenciales del material cocido con los niveles de aminoácidos de la Proteína de Referencia de la FAO, se encontró que la masa de maíz es deficiente en triptofano, lisina e isoleucina; el frijol cocido es deficiente en metionina y triptofano, y el arroz, en lisina, siendo el grado de deficiencia más marcado en la masa que en el frijol o en el arroz. Según el contenido de aminoácidos de los alimentos, el frijol constituye una fuente buena de lisina.

Los estudios biológicos se llevaron a cabo usando dietas isoproteicas e isocalóricas y con un contenido de fibra cruda igual en todas las raciones. La proteína total de la dieta provenía de los ingredientes individuales o de las combinaciones del cereal y de la leguminosa. En todos los experimentos realizados, la masa sola y el arroz solo produjeron mejor crecimiento que el frijol cocido, resultados que no se pueden explicar únicamente con base en el contenido de aminoácidos esenciales de los ingredientes.

En todos los estudios efectuados, incluyendo tanto los de crecimiento como los de depauperación y repleción, en los que se administraron mezclas de masa y frijol cocido, así como arroz y frijol cocido, la sustitución de parte de la proteína del cereal por proteína del frijol mejoró el crecimiento y la recuperación de peso de los animales incluidos en el experimento. En los estudios llevados a cabo con masa y con frijol, este efecto se manifestó al administrar la dieta en la que el frijol aportaba 20% de la proteína total y dejó de observarse al alimentar a los animales con la ración en la que este ingrediente, o sea el frijol, proveía el 60% de la proteina. En los experimentos hechos con combinaciones de arroz y de frijol, la mejora de crecimiento de las ratas jóvenes y de la recuperación de peso de los animales depauperados principió cuando el frijol aportaba el 20% de la proteína total de la dieta y se dejó de observar al proporcionar este ingrediente el 50% del nitrógeno total de la ración. La inclusión de mayores cantidades de proteína del frijol tuvo como resultado un menor crecimiento en las ratas jóvenes y un descenso en la recuperación del peso de los animales depauperados de sus reservas de proteína. Los efectos a que nos hemos referido se trataron de explicar usando para tal fin las cantidades de los aminoácidos esenciales de cada dieta experimental. En general, las deficiencias de lisina de los dos cereales se corrigen conforme la cantidad de proteína del frijol aumenta en la ración y al mismo tiempo la cantidad de metionina disminuye; otros aminoácidos esenciales también se vuelven limitantes conforme la cantidad de frijol aumenta en la dieta.

Los hígados de ratas en el proceso de crecimiento fueron analizados para determinar su contenido de grasa y de proteína, como una indicación del balance de aminoácidos esenciales en las diferentes raciones. De los ensayos llevados a cabo con masa y con frijol se deduce que cuando el crecimiento es mejor, existe un pequeño aumento en el contenido de grasa del hígado, correspondiendo éste a las dietas en las que el agregado de frijol a la masa produjo mejor crecimiento. Los niveles de grasa en el hígado descendieron ligeramente al disminuir el crecimiento de los animales. La acumulación de grasa en el hígado fue más marcada en los estudios efectuados con arroz y con frijol cocido. Los resultados indican que a pesar de que sí se produce una mejora de crecimiento de los animales agregando frijol a las dietas a base de masa o de arroz, no se logra que la acumulación de grasa en el hígado disminuya.

Este hecho indica cierta deficiencia de aminoácidos en las mezclas, que posiblemente no sea tan importante para el crecimiento como lo es para la movilización de la grasa acumulada en el hígado.

El estudio del efecto de suplementar con aminoácidos una dieta compuesta de masa y de frijol y otra de arroz y de frijol se llevó a cabo con el objeto de determinar si con ello se mejoraba el valor biológico de las mismas. En el caso de la dieta a base de masa y de frijol no se observó ningún efecto beneficioso al suplementar con metionina o con lisina la dieta compuesta de 60% de proteína de masa y de 40% de proteína de frijol. Estos resultados indican que posiblemente son otros los aminoácidos limitantes en estas raciones. En los estudios hechos con arroz y con frijol se observó que el crecimiento mejoraba al suplementar la dieta que contenía 60% de proteína de arroz y 40% de proteína de frijol, con lisina más treonina y metionina. Sería de interés estudiar si la adición de estos aminoácidos también tiene como resultado una disminución de la grasa del hígado.

Con base en los estudios realizados, se recomienda tentativamente el uso de mezclas de masa y de frijol en las que el contenido de proteína varíe entre 70% procedente de la masa y 30% del frijol, hasta 40% de proteínas de la masa y 60% de frijol; sin embargo, se deben proporcionar también otros alimentos. En el caso del arroz y del frijol las mejores mezclas son aquellas en las que el arroz aporta de 80 a 50% de la proteína y el frijol del 20 al 50%. Sin embargo, es muy necesario que otros alimentos sean administrados debido a los efectos observados en lo que a acumulación de grasa en el hígado se refiere. También sería importante hacer estudios tendientes a determinar qué alimentos son necesarios de agregar a las mezclas elaboradas a base de masa y de frijol y de arroz y de frijol, para obtener no sólo buen crecimiento sino también una menor acumulación de grasa en el hígado. Los resultados de estos estudios se consideran de importancia ya que ellos permiten una mejor recomendación de las proporciones óptimas en que se deben mezclar los alimentos investigados en la alimentación de los niños y de los seres humanos en general.

VII. RECONOCIMIENTOS

Deseo dejar constancia de mi agradecimiento al personal del Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP) y, en especial, a su Director Dr. Nevin S. Scrimshaw, quien me proporcionó la oportunidad de llevar a cabo este Trabajo de Tesis como becaria de la Institución.

Asimismo patentizo mi reconocimiento a la Dirección General de Sanidad de El Salvador a través de la cual fué girada dicha beca, como a las demás personas que en una u otra forma se interesaron por hacerla efectiva.

Al Dr. Carlos Tejada Valenzuela, Jefe de la División de Patología Clínica del INCAP, agradezco su entusiasta colaboración.

Finalmente, y en una forma muy especial, hago público mi sincero agradecimiento al Dr. Ricardo Bressani, Jefe de la División de Química Agrícola y de Alimentos del INCAP, por la constante ayuda, dirección y buena voluntad que en todo momento tuvo a bien prestarme y bajo cuya firme guía pude llevar a cabo estas investigaciones.

VIII. REFERENCIAS

- 1. Adolph, W. H., y F. W. Cheng: The Biological Value of Mixed Cereal Proteins. Chinese J. Physiol. 9: 245-252, 1935.
- 2. Association of Official Agricultural Chemists: Official Methods of Analysis, 7^a ed., Washington, D. C. Association of Official Agricultural Chemists, 1950.
- 3. Banerjee, R. M., P. K. Dhingra, y N. B. Das: Effect of Vitamin B12 and Methionine on the Biological Value of Pulse Proteins. Science and Culture (India) 21: 384-385, 1956.
- 1. Baptist, N. G.: Essential Amino-acids of Some Common Tropical Legumes and Cereals. British J. Nutrition 8: 218-222, 1954.
- 5. Baptist, N. G.: Growth of Rats on Cereal-Legume Vegetable Diets. Ceylon J. Med. Science, Section D, 9: 15-17, 1956.
- 6. Breese Jones, D., y J. C. Murphy: Cystine Deficiency and Vitamin Content of the Lentil, Lens esculenta Moench. J. Biol. Chem. 59: 213-253, 1924.
- 7. Bressani, R., R. Paz y Paz, y N. S. Scrimshaw: Corn Nutrient Losses. Chemical Changes in Corn during Preparation of Tortillas. J. Agric. & Food Chem. 6: 770-774, 1958.
- 3. Bressani, R., y N. S. Scrimshaw: Lime-heat Effects on Corn Nutrients. Effect of Lime Treatment on In Vitro Availability of Essential Amino Acids and Solubility of Protein Fractions in Corn. J. Agric. & Food Chem. 6: 774-778, 1953.
- 9. Bressani, R., N. S. Scrimshaw, M. Béhar, y F. Viteri: Supplementation of Cereal Proteins with Amino Acids. II. Effect of Amino Acid Supplementation of Corn Masa at Intermediate Levels of Protein Intake on the Nitrogen Retention of Young Children. J. Nutrition. 66: 501-513, 1958.
- 10. Bressani, R., y E. T. Mertz: Studies on Corn Proteins. IV. Protein and Amino Acid Content of Different Corn Varieties. Cereal Chem. 35: 227-235, 1958.
- 11. Castillo, A. S., y M. Flores: Estudios Dietéticos en El Salvador. II. Cantón Platanillos, Municipio de Quezaltepeque, Departamento de La Libertad. Suplemento Nº 2 del Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana, "Publicaciones Científicas del INCAP", p. 54-65, 1955.
- 12. Chitre, R. G., v S. M. Vallury: Studies on the Protein Value of Cereals and Pulses. 2. Effect of Feeding on Total Protein, Fat and Glycogen Content of Livers in Young Rats. Indian J. Med. Res. 44: 565-571, 1956.
- 13. de Castro, J., y E. Pechnik: Valor Nutritivo de la Mezcla del Maíz con la Leche. Arch. Vene-zolanos de Nutrición. 2: 313-326, 1951.
- 14. Deshpande, P. D., A. E. Harper, F. Quiroz Pérez, y C. A. Elvehjem: Further Observations on the Improvement of Polished Rice with Protein and Amino Acids Supplements. J. Nutrition. 57: 415-428, 1955.
- 15. Desikachar, H. S. R., A. N. Sankaran, y V. Subrahmanyan: The Comparative Value of Soya Bean and Bengal Gram as Supplements to the Poor South Indian Rice Diet. *Indian J. Med. Res.* 41: 741-748, 1956.
- 16. Elvehjem, C. A., y A. E. Harper: Importance of Amino Acid Balance in Nutrition. J. Amer. Med. Assoc. 158: 655, 1955.
- 17. Elvehjem, C. A.: Amino Acid Imbalance. Fed. Proc. 15: 965, 1956.
- 18. Feketc. L., e I. Korpáczy: The Completing (Nutritive Value Increasing) and the Degradating (Nutritive Value Decreasing) Effect of Dietary Proteins. *Acta Physiol. Acad. Sci. Hung.* 9: 243-251, 1956.

- 19. Flores, M., y E. Reh: Estudios de Hábitos Dietéticos en Poblaciones de Guatemala. I. Magdalena Milpas Altas. Suplemento Nº 2 del Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana, "Publicaciones Científicas del INCAP", p. 90-128, 1955.
- 20. Flores, M., y E. Reh: Estudios de Hábitos Dietéticos en Poblaciones de Guatemala. II. Santo Domingo Xenacoj. Suplemento Nº 2 del Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana, "Publicaciones Científicas del INCAP", p. 129-148, 1955.
- 21. Flores, M., y E. Reh: Estudios de Hábitos Dietéticos en Poblaciones de Guatemala. III. San Antonio Aguas Calientes y su Aldea, San Andrés Ceballos. Suplemento Nº 2 del Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana, "Publicaciones Científicas del INCAP", p. 149-162, 1955.
- 22. Flores, M., y E. Reh: Estudios de Hábitos Dietéticos en Poblaciones de Guatemala. IV. Santa María Cauqué. Suplemento Nº 2 del Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana, "Publicaciones Científicas del INCAP", p. 163-173, 1955.
- 23. Frey, K. J.: The Inheritance of Protein and Certain of Its Components in Maize. Agron. J. 41: 113-117, 1949.
- 24. Frey, K. J., B. Brimhall, y G. F. Sprague: The Effects of Selection Upon Protein Quality in the Corn Kernel. Agron. J. 41: 399-403,1949.
- 25. Geiger, E.: Experiments with Delayed Supplementation of Incomplete Amino Acid Mixtures. J. Nutrition 34: 97-111, 1947.
- 26. Hamilton, T. S., B. C. Hamilton, B. C. Johnson, y H. H. Mitchell: The Dependence of the Physical and Chemical Composition of the Corn Kernel on Soil Fertility and Cropping System. Cereal Chem. 28: 163-176, 1951.
- 27. Hansen, D. W., B. Brimhall, G. F. Sprague: Relationship of Zein to the Total Protein in Corn. Cereal Chem. 23: 329-335, 1946.
- 28. Harper, A. E., J. Monson, D. A. Benton, M. E. Winje, y C. A. Elvehjem: Factors Other Than Choline which Affect the Deposition of Liver Fat. J. Biol. Chem. 206: 151-158, 1954.
- 29. Harper, A. E., M. E. Winje, D. A. Benton, y C. A. Elvehjem: Effect of Amino Acid Supplements on Growth and Fat Deposition in the Livers of Rats fed Polished Rice. J. Nutrition. 56: 187-196, 1955.
- 30. Harper, A. E., y C. A. Elvehjem: Dietary Carbohydrates. A Review of the Effects of Different Carbohydrates on Vitamin and Amino Acid Requirements. J. Agric. & Food Chem. 5: 754-758, 1957.
- 31. Harper, A. E.: Balance and Imbalance of Amino Acids. Ann. New York Acad. of Sciences. 69: 1025-1041, 1958.
- 32. Hundley, J. M., H. R. Sandstead, G. Sampson, y D. Whedon: Lysine, Threonine and Other Amino Acids as Supplements to Rice Diets in Man: Amino Acid Imbalance. Amer. J. Clin. Nutrition. 5: 316-326, 1957.
- 33. Jaffé, W. G.: El Valor Biológico Comparativo de Algunas Leguminosas de Importancia en la Alimentación Venezolana. Arch. Venezolanos de Nutrición. 1: 107-126, 1950.
- 34. Kik, M. C.; Nutrients in Rice Bran and Rice Polish and Improvement of Protein Quality with Amino Acids. J. Amer. Diet. Assoc. 32: 647-650, 1956.
- 35. Kik, M. C.: Nutritional Improvement of Rice. J. Amer. Diet. Assoc. 32: 647-650, 1956.
- 36. Laguna, J., y K. J. Carpenter: Raw vs. Processed Corn in Niacin-Deficient Diets. J. Nutrition. 45: 21-28, 1951.
- 37. Massieu, H. G., O. Y. Cravioto, R. O. Cravioto, G. J. Guzmán, y M. de L. Suárez Soto: Nuevos Datos acerca del Efecto del Maíz y la Tortilla sobre el Crecimiento de Ratas Alimentadas con Dietas Bajas en Triptofano y Niacina. Ciencia. 16: 24-30, 1956.

- 33. Manna, L., y S. M. Hauge: A Possible Relationship of Vitamin B13 to Orotic Acid. J. Biol. Chem. 202: 91-96, 1953.
- 39. Mauron, J., y F. Mottu: Relationship Between In Vitro Lysine Availability and In Vivo Protein Evaluation in Milk Powders. Arch. Biochem. & Biophys. 77: 312-327, 1958.
- 10. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura: El Maíz en la Alimentación. Estudio sobre su Valor Nutritivo. F. A. O. Estudios sobre Nutrición, Nº 9. Roma, Italia, 1954.
- 11. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura: Necesidades en Proteínas. F.A.O. Estudios sobre Nutrición, Nº 16. Roma, Italia, 1958.
- 12. Orr, M. L., y B. K. Watt: Amino Acid Content of Foods. Home Economics Research Report No. 4. U. S. Department of Agriculture, Washington, D. C., 1957.
- 13. Osborne, T. B.: Nutritive Value of the Proteins of Maize: Science. 37: 185-191, 1913.
- 14. Osborne, T. B., y L. B. Mendel: Nutritive Properties of the Maize Kernel. J. Biol. Chem. 18: 1-16, 1914.
- 15. Pecora, L. J., y J. M. Hundley: Nutritional Improvement of White Polished Rice by the Addition of Lysine and Threonine. J. Nutrition. 41: 101-112, 1951.
- 16. Phansalkar, S. V., y V. N. Patwardhan: Utilization of Animal and Vegetable Proteins. Nitrogen Balances at Marginal Protein Intakes and the Determination of Minimum Protein Requirements for Maintenance in Young Indian Men. Indian J. Med. Res. 44: 1-10, 1956.
- 17. Reh., E., y C. Fernández: Condiciones de Vida y de Alimentación en Cuatro Grupos de Población de la Zona Central de Costa Rica. Suplemento Nº 2 del Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana, "Publicaciones Científicas del INCAP", p. 66-89, 1955.
- 13. Rosemberg, H. R., y R. Culik: The Improvement of the Protein Quality of White Rice by Lysine Supplementation. J. Nutrition. 63: 477-187, 1957.
- 19. Russell, W. C., M. W. Taylor, T. G. Mehrhof, y R. R. Hirsch: The Nutritive Value of the Protein of Varieties of Legumes and the Effect of Methionine Supplementation. J. Nutrition. 32: 313-325, 1946.
- 50. Sauberlich, H. E., Wan-Yuin Chang, y W. D. Salmon: The Amino Acid and Protein Content of Corn as Related to Variety and Nitrogen Fertilization. J. Nutrition. 51: 241-250, 1953.
- 51. Sauberlich, H. E., Wan-Yuin Chang, y W. D. Salmon: The Comparative Nutritive Value of Corn of High and Low Protein Content for Growth in the Rat and Chick. J. Nutrition. 51: 623-635, 1953.
- 52. Scrimshaw, N. S., R. Bressani, M. Béhar, y F. Viteri: Supplementation of Cereal Proteins with Amino Acids. I. Effect of Amino Acid Supplementation of Corn-Masa at High Levels of Protein Intake on the Nitrogen Retention of Young Children. J. Nutrition. 66: 485-499, 1958.
- 53. Sogandares, L., y G. de Barrios: Estudios Dietéticos en Panamá. I. La Mesa, Provincia de Veraguas. Suplemento Nº 2 del Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana, "Publicaciones Científicas del INCAP", p. 33-46, 1955.
- 54. Sogandares, L., C. de Barrios, y E. Z. de Corco: Estudios Dietéticos en Panamá. II. Barrio El Chorrillo, Ciudad de Panamá. Suplemento Nº 2 del Boletin de la Oficina Sanitaria Panamericana, "Publicaciones Científicas del INCAP", p. 47-53, 1955.
- 55. Spivey, H. E., M. C. Katayama, M. Yoshida, y A. E. Harper: Significance of the "Protein-Sparing" Effect of Dextrin. Amer. J. Physiol. 193: 479-482, 1958.
- 56. Squibb, R. L., J. E. Braham, G. Arroyave, y N. S. Scrimshaw: A Comparison of the Effect of Raw Corn and Tortillas (Limetreated Corn) with Niacin, Tryptophan or Beans on the Growth and Muscle Niacin of Rats. J. Nutrition, 1959. En prensa.

- 57. Steele, B. F., H. E. Sauberlich, M. S. Reynolds, y C. Baumann: Media for Leuconostoc mesenteroides P60 and Leuconostoc citrovorum 3081. J. Biol. Chem. 177: 533-544, 1949
- 58. Sure, B., L. Essterling, J. Dowell, y M. Crudup: Improvement in Whole Yellow Corn with Lysine, Trytophan and Threonine. J. Agric. & Food Chem. 1: 626-629, 1953.
- 59. Sure, B.: Protein Supplementation, Influence of Addition of Certain Amino Acids and Vitamin Bl2 to Proteins in Enriched Milled Wheat Flour on Growth, Protein Efficiency and Liver Fat Deposition. J. Agric. & Food Chem. 5: 373-375, 1957.
- 60. Tandon, O. B., R. Bressani, N. S. Scrimshaw, y F. Le Beau: Nutritive Value of Beans. Nutrients in Central American Beans. J. Agric. & Food Chem. 5: 137-142, 1957.
- 61. Tongur, V. S., y L. V. Orlova: Grain Mixtures with Increased Nutritive Value. Vop. Pitan. 15: 25-30, 1956.

PROPOSICIONES:

Química Biológica	Proteinas
Terapéutica	Vitaminas
Inálisis de Alimentos	Haringe

Esta tesis se terminó de imprimir el 30 de Mayo de 1959 en los talleres de la Editorial Universitaria "José B. Cisneros". San Salvador, El Salvador, C. A.