

CATEDRA DE GENETICA Y ALIMENTACION

Catedrático: Prof. Dr. D. E. ZORITA

"Determinación del valor nutritivo de las proteínas de las semillas de habas (*Vicia faba L.*) y algarrobas (*Ervum monanthos L.*) y sus relaciones suplementarias con las proteínas del maíz y la cebada"*

Por Jesús Balboa Martín

I N D I C E

I. INTRODUCCION.—II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.—III.—REVISION BIBLIOGRAFICA.—1. Sistemas de valoración proteica. 1. 1. Métodos basados en el balance de nitrógeno. 1.2. Métodos basados sobre cambios en las proteínas corporales. 1.3. Métodos microbiológicos. 1.4. Métodos basados en la composición en aminoácidos.—2. Sistema basado en las variaciones del peso vivo. 2.1. Fundamento y definición. 2.2. Estudio crítico. 2.3. Modalidades experimentales. 2.4. Relaciones y equivalencias.—3. Efectos de suplementación entre proteínas. 3.1. Fundamento. 3.2. Determinación.—4. Valor nutritivo de las proteínas de leguminosas. 4.1. Leguminosas en general. 4.2. Proteínas de habas y algarrobas 4.3. Efecto de suplementación entre cereales y leguminosas.—IV. DISPOSICION DE LAS EXPERIENCIAS.—V. MATERIAL Y METODOS.—1. Animales.—2. Dietas.—3. Alojamiento.—4. Análisis estadísticos.—5. Marca experimental.—VI. RESULTADOS Y DISCUSION.—1. Experimento I: Nivel óptimo en la dieta de proteína de habas para una máxima eficacia proteica.—2. Experimento II: Coeficientes de eficacia proteica y retención proteica neta de las proteínas de habas y algarrobas.—3. Experimento III: 3.1. Efectos de suplementación de la proteína de habas con la de maíz y la de cebada. 3.2. Efectos de suplementación de la proteína de algarrobas con la de maíz y la de cebada.—VII. CONCLUSIONES.—VIII. RESUMEN.—IX. BIBLIOGRAFIA.

I.—INTRODUCCION

Todos los animales deben recibir en su dieta una cantidad mínima determinada de proteínas. Los animales jóvenes necesitan recibir proteína en la dieta para su desarrollo y crecimiento; las hembras gestantes para el desarrollo del feto y los órganos femeninos de la reproducción y lactación; las hembras en lactación para la proteína de la leche

(*) Este trabajo constituye la tesis doctoral del autor, realizada bajo la dirección del Prof. Dr. E. Zorita.

y las aves para satisfacer las necesidades de producción de huevos. Incluso los animales que simplemente han de mantener su peso corporal deben recibir proteína en la dieta para compensar la pérdida de proteína corporal debida a la continua elaboración de enzimas, hormonas, etc., y atender al denominado crecimiento adulto (adult growth) relativo al crecimiento y renovación de pelo, uñas, plumas y otros tejidos epidérmicos, que tiene lugar durante toda la vida del animal (MAYNARD y LOOSLI ⁴⁴).

Las cantidades medias de proteína que han de administrarse en la dieta a los animales, según su condición, pueden cifrarse "grosso modo", y sólo a título orientador (ABRAMS ¹), como sigue:

Crecimiento, 1. ^a época ...	25 %	de la energía digestible de la dieta	ha de proceder de la proteína.
Mantenimiento	5-10 %	"	"
Gestación, último tercio .	15 %	"	"
Lactación	12-16 %	"	"
Trabajo	5-7 %	"	"

Por otra parte, en general, para los animales no rumiantes la calidad de las proteínas es tan importante como la cantidad.

La alimentación racional y equilibrada de los animales domésticos requiere el empleo de alimentos concentrados para satisfacer plenamente las necesidades nutritivas para una elevada producción.

Los cereales, particularmente el maíz y la cebada, son los ingredientes que, proporcionalmente, forman la mayor parte de tales concentrados. Ahora bien, los cereales son alimentos principalmente hidrocarbonados y, en general, de relativamente bajo contenido de proteína para satisfacer los niveles normalmente requeridos por los animales. Además, las proteínas de los granos son de pobre calidad debido a deficiencias en ciertos aminoácidos esenciales.

Por todo ello se hace necesario, si se quieren obtener resultados eficientes, la administración en la dieta de alimentos que aporten proteína en cantidad y calidad suficientes para alcanzar los niveles dietéticos requeridos y aportar las cantidades de aminoácidos esenciales precisos.

Los alimentos proteicos de origen animal: harina de pescado, harina de carne, leche, etc., constituyen un suplemento idóneo, en la ge-

neralidad de los casos, para la proteína de los cereales. Sin embargo, el empleo de tales suplementos proteicos se encuentra condicionado por razones de índole esencialmente económicas, que obligan a restringir su uso a cantidades mínimas compatibles con rendimientos óptimos. Ahora bien, para llevar a cabo esta restricción se precisa la inclusión en la ración de otros alimentos esencialmente proteicos que coadyuven a alcanzar los niveles mínimos de proteína. Tal efecto sólo puede conseguirse mediante la introducción en la dieta de concentrados proteicos vegetales. En general, las tortas procedentes de las semillas oleaginosas constituyen una buena fuente por la cantidad y calidad de sus proteínas, siendo la harina de soja la más importante desde ambos aspectos. Así, en Estados Unidos la harina de soja constituye más de la mitad de las proteínas suplementarias de que disponen los piensos para el ganado y aves (CATRON y HAYS ²²).

En España las raciones para animales igualmente en gran proporción incluyen harina de soja como suplemento proteico, especialmente las raciones de aves. Mas la producción de soja en nuestro país es prácticamente nula, por lo que la torta de soja utilizada ha de proceder en su totalidad de la importación; estamos, pues, a este respecto, en estrecha y obligada dependencia del mercado exterior que en momentos y condiciones determinadas pudiera hacerse crítica.

Sin embargo, existe un nutrido grupo de leguminosas, tradicionalmente cultivadas en nuestro país, que por su importancia merece una atención especial ya que con una utilización apropiada de las mismas se pudiera, si no totalmente, al menos sí en parte, paliar la situación de franca deficiencia en concentrados proteicos del tipo de las tortas de semillas oleaginosas.

En la tabla I, tomada del Anuario Estadístico de la Producción Agrícola ⁵, figuran los datos relativos a la producción de las principales leguminosas en España, durante los períodos que en la misma se especifican. Del grupo de leguminosas que en ellas se detallan, las habas, algarrobas y yeros tradicionalmente vienen empleándose en alimentación animal exclusivamente. Como puede observarse en dicha tabla, las habas y las algarrobas figuran entre las primeras en orden de importancia por lo que a cantidad producida se refiere.

Como ya hemos mencionado, las semillas de estas leguminosas se vienen empleando tradicionalmente en alimentación animal. Ahora

TABLA I
Leguminosas más importantes cultivadas en España.—Datos de producción.

	SUPERFICIE 000 Ha.			REDIMIENTO Qm/Ha			PRODUCCION 000 Qm		
	1941-50	1961	1962	1941-50	1961	1962	1941-50	1961	1962
Lentejas	47	45	47	4,3	6,1	7,1	204	289	335
Garbanzos	370	264	248	3,1	4,9	5,5	1.142	1.298	1.363
Judías	108	103	100	7,8	13,9	12,6	841	1.430	1.259
Guisantes	46	38	31	4,6	7,6	8,0	212	289	250
Habas	130	156	153	6,3	7,2	9,4	815	1.129	1.444
Algarrobas	192	157	154	4,5	7,1	7,6	860	1.109	1.171
Yeros	107	87	92	5,1	6,9	7,6	540	600	699

bien, hasta el momento su inclusión en las dietas animales, como fuente de proteínas, no se realiza con una base científica, ya que apenas existen referencias sobre trabajos experimentales con estos productos típicamente españoles.

Todas estas consideraciones nos han movido a la realización de una serie de experiencias con el objeto de estudiar, por un lado, el valor nutritivo de las semillas de habas y de algarrobas, definido especialmente por la calidad de su proteína y, por otro lado, las posibles relaciones suplementarias entre estas proteínas y las de aquellos cereales que comúnmente constituyen la porción básica de las raciones.

II.—PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

A) *Estimación del valor nutritivo de las proteínas.*—Bajo el nombre genérico de proteínas se entiende un vasto número de sustancias heterogéneas, de diferente composición, y cuyas diferencias en valor nutritivo puede variar entre 0 y 100 por ciento para los fines fisiológicos. Para un racional empleo de los alimentos proteicos en alimentación animal resulta, pues, inadecuada e insuficiente la consideración de “N × 6,25” como una descripción de la proteína de tales alimentos. Hasta el momento presente se hace preciso recurrir a estudios biológicos para determinar el valor nutritivo de las proteínas de los mismos.

Esta última afirmación se encuentra respaldada por el hecho de que la eficacia de una proteína depende esencialmente de los siguientes factores:

- a) La presencia de todos los aminoácidos indispensables para una especie y un estado fisiológico determinados.
- b) El equilibrio óptimo de estos aminoácidos que varía no solamente de especie a especie, sino de un estado fisiológico a otro.
- c) La liberación simultánea de todos los aminoácidos durante el curso de la hidrólisis digestiva, lo que asegura la simultaneidad del aporte al nivel de la absorción intestinal.

Son muy escasos y desde luego poco concluyentes los estudios y trabajos de este tipo realizados hasta la fecha en nuestro país y con productos típicos españoles normalmente empleados en la alimentación del ganado.

Anteriormente subrayamos la importancia que las semillas de leguminosas españolas tienen en esta aplicación por su calidad de concentrados proteicos al poseer un contenido de proteína de más del 20 por 100. Y siendo las semillas de habas y de algarrobas las de más elevada producción y las más ampliamente utilizadas para la alimentación del ganado es por lo que consideramos de sumo interés el estudio y la determinación del valor nutritivo de sus proteínas.

Ahora bien, se han desarrollado numerosos métodos experimentales para determinar biológicamente el valor nutritivo de las proteínas. Por ser un método muy empleado por numerosos autores y para las más variadas proteínas que integran normalmente las raciones del ganado, hemos utilizado en nuestras experiencias el método del "Protein Efficiency Ratio" (Coeficiente de Eficacia Proteica) de OSBORNE y MENDEL según se describe más adelante.

B) *Relaciones suplementarias entre las proteínas de semillas de leguminosas y las de cereales.*—Es un hecho conocido que dos o más proteínas con deficiencias en distintos aminoácidos pueden compensarse mutuamente tales deficiencias, dando lugar a una mezcla proteica de valor nutritivo más elevado que el que correspondería a partir de los valores de las proteínas por separado.

Puesto que, en condiciones prácticas de alimentación del ganado, normalmente las raciones están formuladas a base de cereales y concentrados proteicos, de tal manera que ambos tipos de materias primas toman parte en mayor o menor proporción como fuentes de la proteína total de la dieta, creemos es de gran utilidad, tanto desde el punto de vista científico como del económico en la alimentación racional del ganado, conocer en qué medida ambos tipos de proteína pudieran suplementarse dadas las diferentes proporciones de aminoácidos que constituyen cada una de ellas y así averiguar qué combinación de leguminosa-cereal resulta de mayor valor nutritivo y por consiguiente más ventajosa.

Ya que el maíz y la cebada son los cereales más profusamente empleados en la alimentación del ganado, consideramos importante determinar las relaciones suplementarias entre las proteínas de las semillas de habas y algarrobas, por un lado, y las proteínas de maíz y cebada por otro, en todas las posibles combinaciones leguminosa-cereal.

III.—REVISION BIBLIOGRAFICA

1. *Sistemas de valoración de las proteínas.*—Son numerosos los intentos realizados para determinar el valor nutritivo de las proteínas, lo que ha conducido al desarrollo de un gran número de métodos experimentales de concepción muy diversa y de modalidades técnicas variadas. Es preciso hacer constar el significado puramente convencional de estos métodos, de tal manera que los resultados que proporcionan son meramente un índice del valor de la proteína obtenido para una función específica y bajo unas condiciones determinadas que pudiera no ser válido para otras funciones y condiciones.

Con el ánimo de reseñar brevemente aquellos métodos que han sido más comúnmente utilizados desde un punto de vista estrictamente nutritivo, nos permitimos clasificarlos como sigue: a) Métodos basados en el balance de nitrógeno; b) Métodos basados sobre cambios en las proteínas corporales específicas; c) Métodos microbiológicos; d) Métodos basados en la composición de aminoácidos; y e) Métodos basados en las variaciones de peso vivo.

1. 1. *Métodos basados en el balance de nitrógeno.*—a) *Método de Thomas-Mitchell*⁴⁸. Este método mide el porcentaje de N absorbido que es utilizado en el cuerpo, definiéndose como Valor Biológico. Ahora bien, no es suficiente sustraer el N fecal del N ingerido para determinar la proporción absorbida, ya que existe siempre una porción de N —nitrógeno metabólico— que se elimina con las heces aún con una dieta libre de nitrógeno. De igual modo, para medir el nitrógeno utilizado, el N urinario ha de ser corregido por las pérdidas de N endógeno. Por esta razón la definición de Valor Biológico según THOMAS-MITCHELL precisa la complicada fórmula siguiente:

$$\text{Valor Biológico} = \frac{\text{N utilizado}}{\text{N absorbido}} \times 100 = \frac{\text{N ing.} - (\text{N fec.} - \text{N. met.}) - (\text{N ur.} - \text{N. end.})}{\text{N ing.} - (\text{N fec.} - \text{N met.})} \times 100$$

Este método mide la eficacia de la proteína absorbida para las funciones combinadas de crecimiento y mantenimiento del organismo animal.

Sin embargo, desde un punto de vista práctico este método es muy laborioso, exigiendo numerosos controles y análisis que limitan así el número de animales que se pueden utilizar. Además esta concepción del Valor Biológico implica la distinción entre catabolismo endógeno y exógeno (teoría de FOLIN³⁰), que no tiene mucha significación en el momento presente (FRUTON y SIMMONDS³²).

Puesto que en definitiva la utilización de una proteína depende de su digestibilidad, además del valor biológico de la fracción absorbida, se ha definido el denominado Valor Proteico Neto (Net Protein Value) que tiene por fórmula

$$V. P. N. = \frac{\text{Coeficiente de digestibilidad} \times \text{Valor Biológico}}{100}$$

y que puede ser comparado más fácilmente que el Valor Biológico con el Coeficiente de Eficacia Proteica (Protein Efficiency Ratio) ya que también tiene en cuenta la utilización global de las proteínas.

b) *Método del Nitrógeno Corporal (Carcass-Nitrogen method).*

Este método es en el fondo una modalidad derivada del método anterior introducida por BENDER y MILLER¹⁰ y MILLER y BENDER⁴⁷. El nitrógeno retenido es medido por análisis de los cadáveres en lugar de hacerlo a partir de la diferencia entre N ingerido y excretado. Como estos autores encontraron una relación entre el agua y la proteína corporales, una simple determinación de agua es suficiente para determinar el nitrógeno del cadáver. Este método es mucho más simple y breve que el de THOMAS-MITCHELL y parece dar, según ellos, respuestas similares a las obtenidas para el Valor Proteico Neto calculado a partir del Valor Biológico.

1. 2. *Métodos basados sobre cambios en las proteínas corporales.*—El principio básico de estos métodos radica en la producción de una deficiencia biológica para medir después la capacidad de recuperación que ofrecen las proteínas problemas. Puesto que la mayoría de estos métodos tienen tan sólo una importancia relativa desde el punto de vista de la nutrición, nos limitaremos simplemente a enunciar algunas de las variaciones utilizadas como referencias sin entrar en detalles característicos de cada uno.

a) Sobre las proteínas del plasma sanguíneo. Se rebajan los niveles de las proteínas del plasma sanguíneo por insuficiente aporte de proteína dietética o por repetidas sangrías, o por ambos métodos, y se comparan las distintas proteínas problemas empleando como índice de calidad la capacidad de regeneración de las proteínas sanguíneas para cada una de ellas (ROBSCHET-Robbins y WHIPPLE⁵⁸).

b) Sobre las proteínas hepáticas. Por un procedimiento similar al anterior se compara la capacidad de las proteínas problemas para restaurar la proteína del hígado (CAMPBELL y KOSTERLITZ²¹), o bien se mide la regeneración del contenido enzimático del hígado o de otros órganos¹.

En general estas técnicas presentan el grave inconveniente de que unas proteínas estimulan la restauración de un determinado tejido mejor que la de otro y, por consiguiente, este principio de regeneración no puede utilizarse como base comparativa.

1. 3. *Métodos microbiológicos.*—Estos métodos se fundamentan en el hecho de que los protozoos *Tetrahymena pyriformis* tienen unas necesidades en aminoácidos similares a las de los animales superiores, siendo además capaces de digerir la proteína completa.

El método inicial fue introducido por ROCKLAND y DUNN⁵⁹ quienes utilizaron como índice la producción de ácidos durante 41 días. Posteriormente fue perfeccionado por FERNELL y ROSEN²⁹ utilizando como índice el crecimiento en relación con la producción de amoníaco durante un período de cuatro días. Es un método muy rápido y además permite valorar simultáneamente un gran número de proteínas. Por otra parte, según los autores puede ser de gran utilidad dado el marcado paralelismo entre los ensayos realizados con *Tetrahymena* y con ratas.

Otros autores han ideado métodos similares al anterior. HALEVY y CROSSOWICZ³⁴ han empleado *Streptococcus faecalis* y HORN y col.³⁷ utilizaron *Leuconostoc mesenteroides* sobre proteolizados enzimáticos.

1. 4. *Métodos basados en la composición en aminoácidos.*—Las técnicas cromatográficas y microbiológicas desarrolladas hasta el momento presente permiten la determinación de la composición aminoacídica de las proteínas. Sobre esta base de la composición de las proteínas, se han ideado una serie de métodos para determinar el valor nutritivo de las mismas, por comparación con las necesidades de aminoácidos de los animales.

Entre los más conocidos figuran los siguientes:

a) *Método del Chemical Score.*

Este método fue ideado por BLOCK y MITCHELL¹³. Puesto que no siempre son bien conocidas las necesidades en aminoácidos de un animal de una especie determinada y para una particular función, BLOCK y MITCHELL tomaron como standard la proteína del huevo entero, de elevado valor biológico para las ratas en crecimiento y por tanto con un equilibrio óptimo en aminoácidos. Para valoración de una proteína cualquiera, se compara la proporción de sus aminoácidos con los de la proteína de huevo. Se anotan las diferencias que se expresan en porcentaje. Se llama factor limitante al aminoácido que presenta un mayor porcentaje de déficit con relación a las proteínas del huevo. En general el "Chemical Score" viene expresado por la siguiente fórmula:

$$C. \text{ Score} = \frac{\% \text{ de aminoácido limitante en la prot. problema}}{\% \text{ del aminoácido en el huevo entero}} \times 100$$

Este método proporciona unos resultados que se corresponden muy estrechamente con los de Valor Biológico.

b) *Indice de aminoácidos esenciales.*

Este método ha sido propuesto por OSER⁵⁵ y en él hace intervenir todos los aminoácidos esenciales de la proteína en lugar de solamente el aminoácido limitante. Define el índice como la media geométrica de las cifras que expresan la relación en porcentaje del contenido de cada aminoácido esencial de la proteína problema con relación al polvo de huevo. Así el índice de Aminoácidos Esenciales (I. A. E.) puede calcularse según la siguiente fórmula (tomada de CRAMPTON²⁵), teniendo en cuenta que se consideran diez aminoácidos esenciales:

$$I. A. E. = \sqrt[10]{\frac{100 a}{a_h} \times \frac{100 b}{b_h} \times \dots \times \frac{100 j}{j_h}}$$

siendo: a, b, c, \dots = nivel de aminoácidos en la proteína problema y a_h, b_h, \dots = nivel de aminoácidos en el huevo entero.

Este índice corresponde mejor al mantenimiento que al crecimiento, en tanto que el "Chemical Score" tiene aplicación especialmente para el crecimiento³.

No se nos oculta la existencia de otros muchos métodos de valoración proteica, la mayoría de los cuales no son sino simples modificaciones de los hasta aquí reseñados y basados en los mismos criterios. Una descripción de todas estas modalidades nos llevaría demasiado lejos de nuestro propósito de limitarnos a exponer los principios sobre los que descansan los distintos sistemas de valoración expuestos.

Por ser los empleados en nuestras experiencias hemos preferido dejar para el final los métodos de valoración de las proteínas basados en las variaciones del peso vivo y cuya exposición, más extensa y detalladamente por aquella razón, hacemos a continuación.

2. *Sistema de valoración proteica basado en las variaciones del peso vivo.*

2. 1. *Fundamento y definición.*—La calificación de las proteínas por datos de crecimiento o peso obtenido sobre animales es el método utilizado de más antiguo derivándose inmediatamente de observaciones empíricas, pues es sobradamente conocido que el peso vivo refleja de alguna manera el estado nutritivo del animal. Naturalmente, para que este método resulte específico de la eficacia proteica es preciso que solamente la naturaleza de los aportes nitrogenados entre en juego con exclusión de los demás constituyentes de la dieta. Dicho de otro modo, el animal recibirá una ración completa y equilibrada en la cual la cantidad o la calidad de la proteína sea el único elemento variable.

Conscientes de lo anteriormente expuesto, OSBORNE y MENDEL⁵³ en principio intentaron caracterizar el valor de las proteínas por el nivel mínimo de las mismas que es necesario en una ración para posibilitar, bien el mantenimiento en peso vivo de la rata adulta, o bien el crecimiento máximo en ratas jóvenes. Los resultados eran así expresados en porcentajes de proteína en la ración, siendo el nivel de proteína necesario para obtener el máximo crecimiento inversamente proporcionado al valor nutritivo. La insuficiencia de este elemental proceder para valorar formalmente la calidad de las proteínas resulta enseguida evidente. No considera en absoluto las cantidades ingeridas y olvida la relación de calorías proteicas a calorías no proteicas. El apetito muy variable de los animales depende en parte del contenido proteico de la ración. Cualquier comparación no es, pues, posible si los niveles proteicos varían. Además, la acción dinámico específica de la ración no es idéntica para dietas con 6 ó 18 por ciento de proteína, por ejemplo, incluso si la ener-

gía metabolizable es aparentemente la misma. Las diferencias de incremento térmico conducen, pues, a diferencias de valor nutritivo que repercuten necesariamente sobre el crecimiento.

Para soslayar esta serie de objeciones y aumentar la exactitud del método, OSBORNE y MENDEL eligieron entonces como criterio, no el porcentaje de proteínas, sino la cantidad de proteínas necesaria para el mantenimiento de un animal adulto. Se mide el mínimo proteico que permite el mantenimiento y los resultados son expresados en gramos por semana y por gramo de rata. La eficacia proteica es tanto mejor cuanto más bajo sea el valor encontrado. Este procedimiento es ya más preciso, puesto que tiene en cuenta el apetito del animal; utilizando niveles iso-nitrogenados, se puede ajustar la relación de proteínas a los otros principios ternarios y así igualar los efectos de la acción dinámico específica. Sin embargo, no tienen en cuenta que los requerimientos para el crecimiento difieren de los de mantenimiento, no siendo por tanto equiparables los valores de una misma proteína para una u otra función.

Fue de este modo, con el acicate de un mayor rigor científico, que OSBORNE, MENDEL y FERRY⁵⁴ llegaron al método del denominado "Protein efficiency ratio", ampliamente utilizado hoy en día por su simplicidad y comodidad en su realización. Este método se fundamenta sobre la base real de los incrementos de peso y su relación con la cantidad de proteína ingerida. Esta relación se expresa según la fórmula.

$$P.E.R. = \frac{\text{Gramos de ganancia en peso}}{\text{Gramos de proteína ingerida}}$$

que define matemáticamente el método. Las proteínas son, pues, comparadas en términos de ganancia en peso corporal por gramo de proteína ingerida.

2. 2. *Estudio crítico*.—Se han hecho numerosas objeciones a este método que han conducido a precisar ciertas modalidades operativas. De aquí que consideremos interesante reseñarlas aunque sea brevemente.

a) La crítica fundamental es la siguiente: la suposición de que el incremento de peso es un índice de síntesis proteica no es necesariamente válido; puede haber disparidad entre las variaciones de peso vivo y las variaciones de la tasa de nitrógeno corporal. Según MITCHELL⁵⁵

existe una correlación entre ganancia de peso y ganancia de nitrógeno, pero esta correlación puede ser baja y no muestra siempre la acción diferencial de la ración y de las proteínas ingeridas sobre el contenido en agua, proteínas y grasas de los tejidos. Sin embargo, a partir de estudios comparativos realizados sobre este problema (HEGSTED y WORCSTER)⁵⁵, incluyendo datos de sacrificio y análisis de las canales, parece ser que los errores posibles a este respecto no son probablemente de gran importancia cuando la experiencia se planifica y desarrolla con cuidado. Con una selección de animales de edad apropiada y prestando especial atención a la fracción no proteica de la dieta, tales errores pueden ser reducidos al mínimo.

b) Por otra parte, los resultados varían para cada tipo de proteínas con el nivel de proteína en la dieta. En todos los casos el coeficiente de eficacia proteica (C. E. P.) pasa por un máximo y después disminuye a medida que el nivel proteico se eleva, según se demuestra en la figura I; este hecho ya fue observado por OSBORNE y MENDEL y confirmado más tarde por BARNES y BOSSHARD⁵⁶. A niveles muy bajos

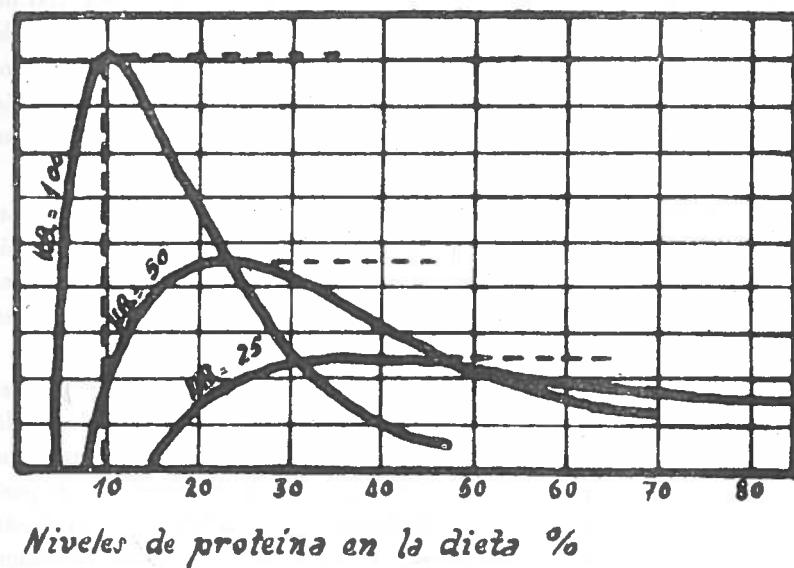


Figura I

Efectos sobre el coeficiente de eficacia proteica de distintos niveles en la dieta de proteínas de valores biológicos de 100, 50 y 25 por 100. (Tomada de De Vuyst y Arnould²⁷).

de ingestión de proteína el animal recibe una insuficiente cantidad de proteína para un óptimo crecimiento; mientras que a niveles muy elevados, las necesidades proteicas de los animales serían más que satisfechas, de tal manera que parte de la proteína sería destruida y utilizada para otros fines diferentes a la formación de tejidos. Por consiguiente existe un nivel de proteína en la dieta para el cual el C. E. P. sería un máximo. Ahora bien, el cálculo del nivel óptimo resulta en cierto modo engoroso y por ello muchos autores, con Mc COLLUM⁴⁵ a la cabeza, proponen el empleo de un nivel arbitrario pero constante. Con tal propósito, algunos utilizan frecuentemente el nivel del 10 por 100. Otros autores no son partidarios de esta arbitrariedad. Así BARNES y col.⁹ destacan que el empleo de un nivel constante y fijo, sin considerar la naturaleza y la calidad de la proteína, conduce a una distorsión considerable del valor nutritivo, aumentando la importancia del error a medida que disminuye la calidad nutritiva. Toda esta serie de consideraciones pueden deducirse con amplia evidencia de la observación de la figura I. Como puede observarse el C. E. P. valorado para raciones cuyo nivel proteico está estandarizado a un 10 por 100 no es proporcional al Valor Biológico. El C. E. P. valorado con un 10 por 100 de proteína en la ración no permite, por tanto, una buena comparación de las proteínas. Por el contrario los C. E. P. medidos a los niveles proteicos que les hacen máximos son rigurosamente proporcionales a los Valores Biológicos. Por consiguiente sólo sobre esta base pueden ser comparadas las diferentes proteínas.

c) Otro punto crítico en la aplicación del método en cuestión radica en el hecho de que los resultados varían con la ingestión de alimento. Numerosos procedimientos de alimentación se han ideado y ensayado para obviar esta fuente de error, presentando todos ellos ventajas e inconvenientes.

SHERWOOD y WELDON⁶⁴ han comparado sobre el terreno experimental los diversos procedimientos que han sido empleados, llegando a la conclusión de que, en orden descendente de sensibilidad a pequeños cambios de valor nutritivo, las distintas técnicas de alimentación pueden ser clasificadas como sigue: a) alimentación "ad libitum"; b) ajuste de ingestión proteica al peso corporal del animal; c) aporte constante de proteína, y d) alimentación por parejas (paired feeding). Este último método ha sido duramente criticado por muchos al no tener en cuenta el grado de desarrollo del animal; a medida que el animal que recibe

la ración mejor supera a su asociado sus necesidades de mantenimiento se hacen mayores que las de este último; dispone entonces de menos proteínas para su crecimiento propiamente dicho y los valores de C.E.P. pueden ser falseados. Para salvar este inconveniente se ha propuesto un método de alimentación forzada. Teóricamente este proceder evita los riesgos de subalimentación que presentaba la alimentación por parejas y los inherentes, en definitiva, a diferencia de sapidez entre las dietas. Sin embargo es poco fisiológico y de un interés práctico limitado¹⁻³.

d) También varía el coeficiente de eficacia proteica con el sexo de los animales empleados. Este hecho está en relación con la diferente tasa de crecimiento que presentan machos y hembras. En la figura II, puede observarse esta diferencia y deducir la gran influencia y fuente de error procedente del empleo de machos y hembras sin distinción. Es por ello por lo que la mayoría de los autores preconizan el empleo únicamente de ratas machos en este tipo de experiencias.

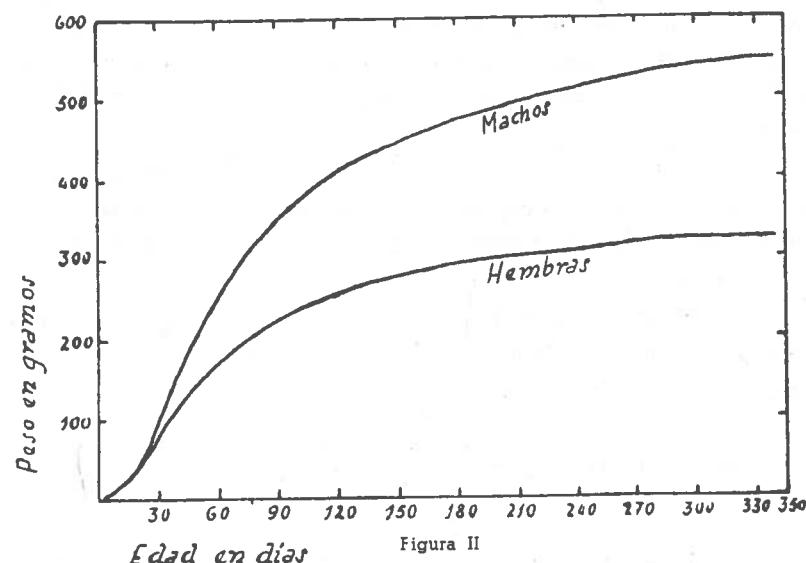


Figura II
Crecimiento de la rata de laboratorio. (Tomada de Nutrient Requirements of Laboratory Animals. N. R. C.⁶²).

e) Asimismo de la observación de las curvas de crecimiento representadas en la figura II, se deduce la influencia que tienen sobre

los resultados la edad y peso de los animales debido a que la tasa de crecimiento varía, aun dentro de un mismo sexo, con estos factores. Comúnmente y como tipo standard se utilizan animales al destete (27-30 días) y con pesos medios entre 40 y 50 gramos.

f) Otro factor que puede hacer variar los resultados es la duración de las experiencias. TASKAR y col.⁶⁹ han realizado un estudio comparativo de los C. E. P., ganancias de peso e ingestión de proteína durante períodos de 7, 14, 21 y 28 días, concluyendo, a partir de los resultados obtenidos, que el período de 14 días es el mejor para estimar el C. E. P., ya que las desviaciones standard de las ganancias en peso y de la proteína ingerida son mínimas al final de este período.

g) Por último es preciso tener en cuenta que, puesto que los resultados obtenidos por este método reflejan la tasa de asimilación global sin permitir hacer la discriminación entre utilización digestiva y utilización metabólica, todo elemento susceptible de disminuir la digestibilidad de las proteínas —y son numerosos— conducen a subestimaciones del valor nutritivo de las mismas. Es, pues, indispensable que las dietas utilizadas contengan la misma proporción de ballast fibroso, teniendo en cuenta la influencia del mismo sobre la digestibilidad de la proteína.

2. 3. *Modalidades experimentales.*—Para obviar en lo posible esta serie de críticas y objeciones algunos autores han propuesto una serie de modalidades experimentales, de las cuales mencionamos las dos más conocidas:

1.^a Modificación de HOAGLAND³⁶.—Este autor sugiere el empleo de una prueba de digestibilidad conjunta con el estudio del crecimiento y propone el coeficiente siguiente:

$$\text{Eficacia Proteica (E. P.)} = \frac{\text{Ganancia de peso en grs.}}{\text{Proteína absorbida en grs.}}$$

2.^a Retención Proteica Neta (Net Protein Retention).—Esta modificación ha sido introducida por BENDER y DOELL¹¹ con el ánimo de salvar dos de las críticas más importantes que afectan al método del "Protein Efficiency Ratio": la variabilidad dependiente del nivel de ingestión de proteína y el hecho de que las proteínas que no producen crecimiento no pudieran ser valoradas.

La modalidad experimental radica en que introduce un grupo control que recibe una dieta libre de nitrógeno. El grupo experimental ingiere la dieta con la proteína problema. La retención proteica neta es definida por la siguiente fórmula:

$$\text{R.P.N.} = \frac{\text{Ganancia en peso del grupo problema} + \text{Pérdida de peso del grupo libre de nitrógeno}}{\text{Proteína ingerida}}$$

Esto permite medir la proteína empleada para crecimiento y la empleada para mantenimiento.

En el momento presente, esta técnica de BENDER y DOELL parece ser la más satisfactoria y generalmente aceptada³.

2. 4. *Relaciones y equivalencias.*—BLOCK y MITCHELL¹³, en un estudio comparativo de los valores nutritivos de las proteínas obtenidos por diferentes métodos, observaron que existe una correlación bastante estrecha entre los valores determinados con el método del "Protein Efficiency Ratio" y los hallados por medio de los métodos basados en la técnica de los balances de nitrógeno.

Estos mismos autores definen la relación entre el coeficiente de eficacia proteica (C. E. P.) y el valor de Utilización Proteica Neta por medio de la fórmula:

$$Y = 37,2 + 14,05 X$$

donde Y representa el valor Utilización Proteica Neta y X el coeficiente de eficacia proteica. El coeficiente de correlación es bastante elevado ($r = + 0,838$).

La curva de regresión para el Valor Biológico y el coeficiente de eficacia proteica está determinada por la fórmula:

$$Y = 49,9 + 10,53 X$$

siendo en este caso el coeficiente de correlación más bajo que en el caso anterior ($r = + 0,736$).

Sin embargo, según los mismos autores, es preciso tener en consideración que el coeficiente de eficacia proteica tiene tendencia a ser demasiado elevado para las proteínas de un Valor Biológico solamente

mediano. Esto significaría que para este tipo de proteínas el Valor Biológico calculado según la fórmula anterior a partir del coeficiente de eficacia proteica sería algo más elevado que el real.

Por otra parte, BENDER y DOELL¹¹, a partir de un estudio sobre treinta y cinco proteínas y mezclas de proteínas, hallaron una correlación altamente significativa ($r = 0,986$; $P < 0,01$) entre el valor nutritivo calculado según su método de Retención Proteica Neta (Net Protein Retention) ya expuesto y el coeficiente de Utilización Proteica Neta, calculado según el método de dosificación del nitrógeno corporal (Carcass-Nitrogen Method) de BENDER y MILLER. Definen la línea de regresión entre ambas escalas de valores por la fórmula:

$$Y = 3,3 + 15,5 X$$

siendo Y el coeficiente de Utilización Proteica Neta y X la Retención Proteica Neta.

3. Efectos de suplementación entre proteínas.

3. 1. *Fundamento.*—El valor nutritivo de la proteína digestible, administrada en cantidad que no sea superior a la óptima y en una dieta que contenga la energía adecuada, depende principalmente de su contenido en aminoácidos esenciales o, más concretamente, del equilibrio entre estos aminoácidos dentro de la proteína. Cuanto más se aproxime esta combinación de aminoácidos a las proteínas de los tejidos animales mejor y en mayor proporción serán utilizadas. Por el contrario, a medida que se administran proteínas de menor valor biológico, será mayor cada vez el exceso de aminoácidos no utilizados para satisfacer las necesidades proteicas del organismo por faltar aminoácidos esenciales. Este exceso de aminoácidos no utilizados suele ser desaminado y posteriormente oxidado para servir como fuente energética.

Ahora bien, este residuo de aminoácidos no utilizado en la síntesis de los tejidos debido a la ausencia de aminoácidos esenciales puede ser aprovechado, al menos en parte, recurriendo a uno de los dos métodos siguientes:

a) Administrar junto con la proteína dietética aminoácidos esenciales puros para corregir la deficiencia en los mismos.

b) Emplear mezclas de proteínas. Si dos o más proteínas de bajo valor nutritivo se combinan en una ración y ambas son deficientes

en diferentes aminoácidos esenciales, puede haber una mutua suplementación de los aminoácidos de cada una de las proteínas originales con la consiguiente mejora del valor nutritivo de la mezcla sobre los componentes aislados.

Consecuentemente una proteína que tenga un alto valor biológico, es decir, que posea un equilibrio de aminoácidos marcadamente similar al de las proteínas corporales y que, por consiguiente, cuando se administra sola no da lugar a desperdicio de nitrógeno apreciable, tendrá muy poco efecto suplementario.

Existen numerosos ejemplos de efectos suplementarios entre proteínas. BEST y TAYLOR¹² exponen casos en que incluso dentro de los principales alimentos naturales, la mayor parte de los cuales contienen dos o más proteínas, se hace evidente el efecto de suplementación entre éstas. Así, en la leche, la deficiencia de cistina en la caseína se encuentra compensada por el relativamente alto contenido de este aminoácido en la lactoalbúmina. Otro ejemplo de relación suplementaria lo ofrecen las proteínas del trigo: aunque la gliadina del trigo no permite el crecimiento animal, sin embargo el trigo completo sí; la deficiencia en lisina de la gliadina es suplementada por otra proteína del trigo, la glutenina, que es más rica en lisina. El maíz contiene junto a la zeína, la proteína suplementaria glutelina.

El efecto suplementario entre proteínas de distintos alimentos ha sido puesto de manifiesto en numerosas ocasiones. MITCHELL y KICK¹³ lo demostraron de un modo fehaciente en el caso del maíz y harina de carne. Estos autores trabajando con cerdos en crecimiento hallaron que mientras el valor biológico del maíz fue 54 y el de la carne 42, sin embargo el de la combinación de ambos en la proporción 2 : 1 resultó ser 61. MAYNARD y LOOSLI¹⁴ concretan que, en general, las combinaciones de productos vegetales y animales constituyen mezclas muy ventajosas y cuando los granos son suplementados con 10 ó 15 por 100 de alimentos de origen animal, la combinación es casi tan eficaz desde el punto de vista alimentario como el producto animal solo. Agregan estos mismos autores que, en líneas generales, las semillas y sus productos no se suplementan entre sí siendo una excepción la combinación de soja o cacahuet con los granos de cereales.

Más adelante al hacer referencia más concretamente a los efectos de suplementación entre cereales y leguminosas serán expuestos más ejemplos de este tipo de relaciones entre proteínas.

3. 2. *Determinación de efectos suplementarios.*—Si bien los datos sobre el valor nutritivo de las proteínas consideradas individualmente proporcionan una información básica muy importante, sin embargo, la utilidad de estos datos individuales para valorar las combinaciones de proteína que tienen lugar en las raciones en la práctica se encuentra limitada por el hecho de que, cuando se combinan dos proteínas de distinto origen, el valor resultante no es necesariamente la media de los valores individuales.

MITCHELL, citado por ABRAMS¹, sugirió que una mezcla de dos o más proteínas tendrá mayor valor nutritivo que sus constituyentes si su "Chemical Score" es mayor que el de las mismas o, con otras palabras, si las proporciones de aminoácidos en la mezcla se aproximan más estrechamente a la proteína de huevo completo que las de las proteínas dietéticas por separado.

Sin embargo, no puede esperarse una gran precisión en la predicción del valor nutritivo de las proteínas o mezclas de proteínas basada solamente en la composición de aminoácidos, pues como ya dijimos en otro lugar los aminoácidos de las proteínas dietéticas no son todos liberados en el mismo grado durante el proceso de la digestión, por ejemplo, en la harina de algodón solamente el 65 por 100 de la lisina es absorbida.

Indudablemente, pues, el mejor dato orientador acerca del valor nutritivo de una combinación de dos o más proteínas ha de proceder de pruebas biológicas; y es en este terreno donde los métodos biológicos de valoración de proteínas pueden prestar una mayor utilidad, pues las raciones prácticas de los animales generalmente están constituidas por combinaciones de productos vegetales y animales.

4. *Valor nutritivo de las proteínas de semillas de leguminosas.*

4. 1. *Leguminosas en general.*—Por su elevado contenido de proteína en relación con los cereales, las semillas de leguminosas pueden considerarse como concentrados proteicos a efectos de alimentación animal.

En líneas generales las semillas de leguminosas se caracterizan por su elevado contenido en sustancia seca; por poseer 20 por 100 ó más de proteína; entre 50 y 70 por 100 de carbohidratos fácilmente hidrolizables; un contenido de fibra de alrededor de 7 por 100 y 3 por 100 de sustancias minerales, de las cuales el elemento más abundante es el fós-

foro y, en menor proporción, el calcio. Todas estas características confieren a las leguminosas una gran importancia entre los alimentos de origen vegetal.

Según REVUELTA², el principal componente de la proteína de estas semillas es la legumina, una monoglobulina vegetal, monodispersa y de peso molecular elevado; contienen además legumelina, considerada como albúmina. Las restantes fracciones proteicas carecen de interés.

ABRAMS¹ indica que, en general, para las ratas en crecimiento, las proteínas de leguminosas tienen un coeficiente de eficacia proteica (gramos de ganancia en peso por gramo de proteína ingerida) que oscila entre 1,0 y 1,5.

ESH y SOM²⁸ determinaron el valor biológico de la proteína de siete variedades de semillas de leguminosas obteniendo cifras que oscilan desde 41,6 por 100 para las almortas hasta 64,0 por 100 para las judías y garbanzos.

BANERJEE⁵ ha estudiado el contenido en aminoácidos esenciales y el valor nutritivo de un grupo de siete leguminosas que, por orden de importancia, clasificó como sigue: Phaseolus radiatus, Pisum sativum, Lathyrus sativum, Phaseolus mungo, Cajanus indicus, Lens esculenta y Cicer arietinum. El coeficiente de eficacia proteica varió desde 1,16 para L. esculenta a 1,87 para P. radiatus.

Resultados similares fueron obtenidos por ADOLPH, SHAMMAS y HALABY² para las siguientes leguminosas sometidas previamente a cocción: Cicer arietinum, Vicia Faba, Phaseolus vulgaris y Lens esculenta; siendo los coeficientes de eficacia proteica hallados para cada una de estas leguminosas, respectivamente, 2,05, 1,17, 1,51 y 1,15.

Sin embargo, PUJOL y VARELA⁵⁶, en un estudio realizado con ratas sobre la digestibilidad y valor nutritivo de un grupo de leguminosas españolas: Cicer arietinum, Ervilia sativa, Ervum monanthos, Lathyrus sativus, Vicia faba y Vicia sativa, obtuvieron solamente un ligero aumento de peso en el total del lote sometido a experiencia con garbanzos (Cicer arietinum) y habas (Vicia faba). Concluyen que todas las leguminosas estudiadas son de un valor nutritivo muy bajo, dando, allí donde hubo algún crecimiento, los siguientes coeficientes de eficacia proteica: V. faba, $0,43 \pm 0,22$; C. arietinum, $0,31 \pm 0,05$; L. sativus, 0,44. Los coeficientes de digestibilidad aparente de las proteínas oscilaron de 70,99 para las habas a 80,95 para los yeros.

El bajo valor nutritivo de la proteína de leguminosas parece radicar en su relativa pobreza en aminoácidos sulfurados, concretamente en metionina.

COLOBRARO y SANAHUJA²⁴ determinaron el contenido en aminoácidos sulfurados y triptófano de los garbanzos, lentejas, habas y cinco variedades de judías. Comparando los valores hallados con los determinados por ellos mismos en las proteínas de carne y pescado, llegaron a la conclusión de que en todos los casos las proteínas de las leguminosas son inferiores en su contenido de metionina respecto a las de origen animal, y en lo que se refiere al triptófano las judías y habas resultaron similares al pescado, pero inferiores a la carne.

Igualmente BRESSANI, ELIAS y NAVARRETE¹⁷ han estudiado la composición en aminoácidos esenciales en seis muestras de leguminosas de Centro América, observando que la metionina es el aminoácido limitante, seguido por la leucina y el triptófano.

Esta deficiencia de metionina ha sido comprobada a través de numerosos ensayos biológicos.

Así RUSSELL y col.⁶¹, con un nutrido grupo de leguminosas (nueve variedades de judías y nueve de guisantes), observaron solo un ligero crecimiento en ratas, cuando tales leguminosas se administraron como única fuente de proteína al nivel del 10 por 100 de la dieta. Sin embargo, la adición de sólo 0,1 por 100 de metionina a la dieta basal motivó una inmediata respuesta del crecimiento e incrementó el coeficiente de eficacia proteica. El incremento fue aún mayor cuando el nivel de metionina se elevó a 0,6 por 100 excepto en tres variedades de guisantes. Concluyen además estos autores que el contenido en metionina de las leguminosas, del orden de 0,29 a 0,85 por 100, no tiene una relación directa con el valor nutritivo de las proteínas; según ellos, además, la metionina de la soja y garbanzos es más fácilmente utilizada por la rata que la presente en las leguminosas estudiadas.

JAFFE⁴¹ alimentó durante tres semanas grupos de ratas con dietas conteniendo 10 por 100 de proteína procedente de diversas variedades de judías, soja, cacahuet, guisantes, lentejas, garbanzos, etc. Las semillas fueron sometidas al autoclave en todos los casos. Durante las tres semanas siguientes las dietas eran suplementadas con 0,3 por 100 de metionina. A excepción de la soja y garbanzos, ninguna de las legumbres originaba más que ligeros crecimientos. Las variedades de judías

suplementadas con metionina produjeron tan buen crecimiento como la soja suplementada con metionina y era comparable al producido por la caseína. La suplementación con metionina de las lentejas y cacahuet no produjo un buen crecimiento. Concluye que la metionina es el aminoácido limitante de todas las muestras.

Por otra parte, las leguminosas en general son relativamente ricas en lisina, por lo cual se han considerado como buenas fuentes de este aminoácido en las dietas¹⁻¹⁶.

GUTHNECK y col.³³, estudiando la utilización de los aminoácidos de distintos alimentos por la rata, observaron una mayor utilización de la lisina del huevo entero y suero de leche desecados (91 por 100) y de la carne fresca (84 por 100) que la de los cereales y legumbres (71 por 100).

BRESSANI, ELIAS y VALIENTE¹⁹ hallaron que la adición de lisina y triptófano a una dieta con proteína de judías (*Phaseolus vulgaris*) suplementada además con metionina mejoró el coeficiente de eficacia proteica, si bien esta mejora no fue estadísticamente diferente de los valores observados con suplementación de metionina únicamente. Estos resultados parecen indicar que, en algunos casos al menos, la lisina y triptófano de las proteínas de leguminosas no son utilizables biológicamente en tan grandes proporciones como se pensaba.

Finalmente, es preciso destacar el hecho de que algunas semillas de leguminosas contienen ciertas sustancias esencialmente inhibidoras de la tripsina, que impiden total o parcialmente la utilización de algunos aminoácidos de sus proteínas, particularmente en el caso de animales monogástricos. Una revisión de las numerosas pruebas efectuadas sobre esta cuestión⁴ indica que, entre otras, algunas variedades de judías y de habas y las lentejas son mejoradas por el tratamiento con calor, mientras que no ofrecen ninguna ventaja el calentamiento de los garbanzos y guisantes.

4. 2. *Proteínas de semillas de habas y de algarrobas.*—De las especies de leguminosas cultivadas en España las habas (*Vicia faba*, L.) y las algarrobas (*Ervum monanthos*, L.) figuran entre las más destacadas en orden a la producción agrícola.

Respecto a las habas merecen ser citadas dos variedades principales por la extensión que se las dedica en España, la "V. faba mayor" y la "V. faba equina". La primera, de vainas y semillas grandes, se

cultiva mucho para ser consumida en verde, preferentemente para alimentación humana. La segunda o haba caballar, más pequeña que la anterior, se destina a la alimentación del ganado, existiendo variedades de otoño y primavera⁴⁶. En menor proporción se cultiva otra variedad: "V. faba minor", haba pequeña, con vainas y semillas de menor tamaño que las anteriores⁵⁷.

Las algarrobas son espontáneas en Castilla donde se las cultiva desde la más remota antigüedad. Pertenecen al género *Vicia*, sección *Ervoides*, según *LAZARO IBIZA*, que la denomina *V. monanthos*, aunque generalmente se la conoce con el de *Ervum monanthos*. Se la denomina también lenteja uniflora. Esta leguminosa no sólo se cultiva poco fuera de España sino que también existen en ella muchas zonas en las que es totalmente desconocida, como ocurre en Andalucía y Aragón⁴⁶.

En la tabla IV figura la composición química de las semillas de ambas leguminosas, según datos del Instituto de Biología Animal de Madrid⁴⁰.

TABLA IV

Composición química de las semillas de habas y algarrobas

	HABAS	ALGARROBAS
Sustancia seca %	89,1	88,8
Proteína bruta %	25,8	24,1
Grasa bruta %	1,1	1,2
M. e. l. N. %	50,6	54,2
Fibra bruta %	8,3	4,8
Cenizas %	3,3	4,5

MORRISON⁵¹ y STAHLIN⁶⁵ coinciden en que las habas tienen un valor nutritivo similar a los guisantes. Este último autor señala además una alta digestibilidad para la materia orgánica, si bien concede a la proteína un valor biológico pequeño. Para el engorde de vacuno, cerdos y aves, según STAHLIN, las habas pueden constituir hasta la tercera parte de la ración, siendo la calidad de la carne mejor que cuando se utiliza torta de girasol.

Según REVUELTA⁵⁷ las algarrobas constituyen un excelente alimento para el ganado de producción láctea, sobre la cual influyen en cantidad y calidad, así como un complemento proteico de primera calidad para los animales en crecimiento.

FOURY³¹ especifica que la proteína total de la semilla de habas está constituida por las siguientes sustancias proteicas: legumina, vicilina, legumelina y proteosa.

Al referirnos en el apartado anterior al valor nutritivo de las leguminosas en general ya citamos el coeficiente de eficacia proteica encontrado para la proteína de las habas por ADOLPH y col.², que resultó ser de 1,17. También expusimos que, sin embargo, PUJOL y VARELA⁵⁶ hallaron un coeficiente de eficacia proteica de sólo $0,43 \pm 0,22$ para esta última proteína con un coeficiente de digestibilidad de 70,29.

Para la proteína de semillas de algarrobas, estos mismos autores españoles hallaron una digestibilidad de 72,26. Por lo que respecta al valor nutritivo de tal proteína no obtienen ninguna conclusión definitiva debido a la muerte de dos ratas, de un total de cuatro que integraban el grupo experimental; sin embargo, con las dos ratas que llegaron al final encontraron coeficientes de eficacia proteica de 1,08 y 1,02 respectivamente. En la autopsia de los animales muertos observaron hemorragias intestinales y estomacales y degeneración hepática; tales manifestaciones, según ellos, son típicas de la dieta carencial proteica.

RONDA, MORALES y OTERO⁶⁰ han determinado por métodos cromatográficos el contenido en aminoácidos de las proteínas de las semillas de habas y algarrobas, entre otras.

En la tabla V, consignamos los resultados obtenidos por estos autores en la determinación de aminoácidos de habas y algarrobas, así como el porcentaje de deficiencias de cada aminoácido en particular respecto al huevo según han sido calculados por ellos mismos.

Como puede observarse en la tabla V, para las habas el aminoácido limitante es la metionina seguido por la valina en orden de deficiencia. En la proteína de algarrobas figura como primer aminoácido limitante la isoleucina y en segundo lugar la metionina. Los valores nutritivos de ambas leguminosas calculados a partir de estos datos y expresados según el método del "Chemical Score" de BLOCK y MITCHELL resultarían ser los siguientes:

Para las habas: Chemical Score = 31

Para las algarrobas: Chemical Score = 15

TABLA V

Contenido en aminoácidos de las proteínas de semillas de habas y algarrobas y deficiencias respecto a la del huevo completo expresadas en %. (Según RONDA, MORALES y OTERO ⁶⁰).

AMINOACIDOS	HUEVO % PROT.	HABAS % PROT.	ALGARROBAS % PROT.
Metionina	4,1	1,28 (—69 %)	1,21 (—71 %)
Valina	7,3	3,30 (—53 %)	2,88 (—61 %)
Isoleucina	8,0	4,93 (—38 %)	1,20 (—85 %)
Histidina	2,1	1,60 (—24 %)	2,17
Lisina	7,2	5,46 (—24 %)	6,12 (—15 %)
Fenilanina	6,3	5,45 (—14 %)	2,61 (—59 %)
Arginina	6,4	6,10 (— 8 %)	6,30 (— 1 %)
Treonina	4,9	5,13	2,33 (—52 %)
Leucina	9,2	10,26	6,26 (—35 %)
Glicina	3,1	3,92	2,49 (—20 %)

Aminoácidos limitantes	1.—Metionina 2.—Valina	1.—Isoleucina 2.—Metionina
------------------------	---------------------------	-------------------------------

La composición en aminoácidos de las habas ha sido también estudiada por MAHON y COMMON ⁴³ por métodos microbiológicos, (tabla VI). Concluyen igualmente estos autores en que la proteína de esta leguminosa es deficiente en metionina y cistina y, en menor grado, en triptófano, glicina, fenilanina y treonina respecto a su valor nutritivo para las aves.

TABLA VI

Contenido en aminoácidos de las habas, según MAHON y COMMON ⁴³. En porcentaje de habas.

Alanina	0,73	Lisina	1,53
Ac. aspártico	1,79	Metionina	0,15
Arginina	1,64	Fenilanina	0,95
Cistina	0,32	Prolina	1,25
Ac. glutámico	3,78	Serina	1,58
Glicina	1,03	Treonina	0,73
Histidina	0,80	Triptófano	0,25
Isoleucina	1,53	Tirosina	0,85
Leucina	2,10	Valina	1,42

BRISSON, NIKOLAICKZUK y MAW ²⁰ en experiencia de alimentación con pollos demostraron también que la principal deficiencia nutritiva de las habas es debida a la deficiencia en aminoácidos sulfurados. La suplementación con D L-metionina resultó ser altamente beneficiosa. Igualmente la adición conjunta de colina y de D L - metionina a una ración basal con habas mejoró el crecimiento y restauró el emplume normal.

SANZ ARIAS ⁶² recientemente ha obtenido resultados similares con pollos de carne al comparar el valor nutritivo de las habas frente al de la harina de soja, observando que la sustitución total en la ración base de la harina de soja por habas retrasa el crecimiento; sin embargo, la adición de metionina a la dieta con habas mejoró significativamente el crecimiento por encima de la ración a base de harina de soja.

INAMDAR y SOHONIE ³⁹ han realizado una exhaustiva serie de estudios comparativos entre la proteína de habas y la caseína. Establecen en primer lugar que aquélla es deficiente en metionina, valina, leucina, y triptófano respecto a la caseína. En experiencias de crecimiento con ratas administraron al nivel de 10 por 100 de proteína en la dieta habas crudas o sometidas al autoclave, con o sin suplementar con aminoácidos. En todos los casos en que se administraron las habas crudas las ratas perdieron peso. Las habas sometidas al autoclave proporcionaron un crecimiento subóptimo, mejorado al adicionar los aminoácidos limitantes, pero siempre inferior a la caseína. Solamente un hidro-

lizado ácido de la proteína de habas suplementado con metionina igualó al hidrolizado ácido de la caseína. En su serie de trabajos sobre la harina de habas estos autores hicieron, además, las siguientes observaciones: la harina de habas crudas motivó en las ratas deplección de proteínas, hidratos de carbono totales, glucógeno, glutatión y riboflavina en el hígado. Por el contrario, hallaron ligeros incrementos en la grasa, humedad y ácido ribonucleico. La síntesis proteica total pareció no ser afectada. En los sistemas enzimáticos observaron una considerable disminución en xantina oxidasa, transaminasa aspártico-glutámica, glucosa-6-fosfatasa y dehidrogenasa succínica y láctica; sin embargo, la fosfatasa ácida y alcalina permaneció constante.

La posible toxicidad y presencia de inhibidores enzimáticos en las semillas en cuestión han sido estudiadas por varios investigadores, especialmente en lo que a las habas concierne.

Se ha señalado la presencia de alcaloides en las semillas de habas tales como vicina, convicina y conglutina³¹. No obstante, parece ser que el contenido en las habas de los glucósidos vicina y convicina es completamente inocuo, pudiendo evitarse sus posibles efectos a dosis elevadas por medio de la cocción o tratando las habas por vapor⁶⁸.

SOHONIE y AMBE⁶⁷ obtuvieron un inhibidor de la tripsina a partir de las habas, siendo el rendimiento de 0,25 gramos por 100 gramos de harina de habas. La potencia del preparado por ellos realizado era tal que una parte del mismo inhibía completamente cinco partes de polvo de tripsina Merck, siendo además muy estable al calor.

Anteriormente, BORCHERS, ACKERSON y KIMMETT¹⁴, no habían encontrado tal inhibidor en las habas, si bien BORCHERS y ACKERSON¹⁵ en otro trabajo observaron que las habas, entre otras leguminosas, mejoraban como fuentes de proteína al someterlas al autoclave. Sin embargo, no hallaron correlación entre el efecto de someterlas al autoclave sobre el valor nutritivo y la presencia o ausencia del inhibidor de tripsina en las semillas crudas de las leguminosas estudiadas.

INAMDAR y SOHONIE³⁸, recientemente, vuelven sobre esta cuestión y sobre la base de que la harina de habas sometidas al autoclave es mejor digerida "in vitro" por la tripsina que las habas crudas, suponen la existencia de un inhibidor de la tripsina, no estable al calor, que ellos concluyen, posteriormente, es de naturaleza diferente al de la soja.

Como puede observarse, en la bibliografía tanto nacional como extranjera consultada no aparecen apenas datos experimentales relativos a las semillas de algarrobas. Esto es, sin duda, debido como ya hemos señalado al escaso o nulo cultivo de esta leguminosa fuera de España y a la carencia de trabajos experimentales de este tipo en nuestro país.

4. 3. *Efecto de suplementación entre cereales y leguminosas.*— Como ya dijimos anteriormente, las proteínas de las semillas leguminosas se caracterizan por su relativa riqueza en lisina. Por el contrario, este aminoácido suele ser, por lo general, limitante en las proteínas de cereales. Esta propiedad, junto con el mayor contenido en proteína de las leguminosas, amén de su relativa riqueza en calcio, hace a éstas un complemento valioso de los cereales en las mezclas de concentrados.

Los efectos de suplementación entre las proteínas de leguminosas y las de cereales se han hecho evidentes a través de numerosas experiencias.

ADOLPH y col.² observaron que la adición de trigo sancochado (semihervido) a garbanzos, habas, judías y lentejas cocidos proporcionaba un mayor coeficiente de eficacia proteica a la mezcla proteica resultante que la de cualquiera considera fraccionariamente.

La misma conclusión fue obtenida por DE GROOT y SPANJERS²⁶ al sustituir 20, 40, 60, 80 por 100 o toda la proteína de leguminosas por proteína de trigo completo en una dieta con 10 por 100 de proteínas de judías.

BRESSANI, VALIENTE y TEJADA¹⁸ alimentaron grupos de seis ratas al destete con dietas en las cuales 100, 80, 70, 60, 50, 40, 20 y cero por 100 de la proteína era aportada por maíz y el resto por judías cocidas, observando que la ganancia en peso y los coeficientes de eficacia proteica fueron mayores en los grupos en que del 40 al 60 por 100 de la proteína recibida procedía del maíz. La misma conclusión fue confirmada por estos autores realizando las pruebas por el método del Rat Depletion.

Por último citamos como muy interesante por su similitud, en parte, con nuestro trabajo, aunque cronológicamente anterior a las experiencias expuestas, la realizada por Chao-Yu Chem y Tsu-Chai Wang.²³ Estos autores estudiaron la relación suplementaria entre las proteínas de habas y de maíz. Para ello administraron a un grupo de ratas una dieta con 9 por 100 de proteína aportada a partes iguales por el maíz y las

habas. Esta mezcla de proteínas resultó tener un coeficiente de eficacia proteica de 1,59, en contraste con los valores 1,04 y 0,96 obtenidos para las habas y maíz respectivamente, consideradas por separado.

IV.—DISPOSICION DE LAS EXPERIENCIAS

Sobre las consideraciones que bajo los precedentes epígrafes han sido expuestas, especialmente en lo que se refiere a las proteínas de leguminosas y de cereales, por una parte, y al estudio crítico y técnica de la determinación del valor nutritivo de las proteínas en general por el método de las variaciones en peso vivo, por otra, y teniendo en cuenta asimismo el planteamiento del problema ya presentado, hemos dispuesto las experiencias biológicas a realizar de acuerdo con el siguiente protocolo experimental:

Experimento I. Determinación del nivel óptimo de proteína de semillas de habas en la dieta para una máxima eficacia proteica. Se estudian los niveles siguientes: 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17 y 19 por 100 de proteína.

Experimento II. Determinación del valor nutritivo de las proteínas de habas y de algarrobas por los métodos del Coeficiente de Eficacia Proteica y de Retención Proteica Neta. En ambos casos, el nivel en las dietas de las proteínas en cuestión es el óptimo hallado en la experiencia anterior.

Los grupos experimentales utilizados son los siguientes:

- Un grupo recibe una dieta libre de nitrógeno.
- Un grupo recibe la proteína de habas.
- Un grupo recibe la proteína de algarrobas.

Experimento III. Se estudian los efectos de suplementación entre la proteína de habas y las de maíz y cebada, por un lado, y entre las de estos cereales y la de algarrobas, por otro.

Los grupos experimentales son los siguientes:

- Grupo 1 recibe proteína de habas
- " 2 " " " algarrobas
- " 3 " " " maíz
- " 4 " " " cebada

Grupo 5	recibe proteína de habas + maíz
" 6 "	" algarrobas + maíz
" 7 "	" habas + cebada
" 8 "	" algarrobas + cebada

V.—MATERIAL Y METODOS

1. *Animales.*

Para la realización de las experiencias se han utilizado ciento dos ratas, todas ellas machos, de raza Albina-Wistar y procedentes de líneas consanguíneas criadas en el ratario de la Cátedra de Genética y Alimentación de la Facultad de Veterinaria de León y formado a partir de parejas procedentes del ratario del Centro de Investigaciones Biológicas del C. S. de I. C.

Todas las ratas procedían de camadas reducidas a un número de ocho individuos al tercer día del nacimiento; siendo destetadas a los veintisiete días de edad, pesando de 40 a 45 gramos, y mantenidas con una dieta normal de crecimiento, formulada según las necesidades nutritivas establecidas por el N. R. C.⁵² hasta alcanzar un peso de alrededor de 50 gramos. Solamente en el experimento I fueron empleadas, en parte, ratas de mayor peso, si bien éstas fueron distribuidas equitativamente entre los diversos grupos experimentales. La inclusión de estas ratas de ligeramente mayor peso no afecta a la conclusión buscada en esta experiencia, pues importaban sólo los resultados de un modo relativo, por comparación entre sí, y no por sus valores absolutos.

2. *Dietas*

Para la formulación de las dietas empleadas en cada uno de los experimentos, se analizaron previamente las materias primas fuentes de las proteínas objeto de estudio, con arreglo a los métodos recomendados por la A. O. A. C.⁶ En la tabla VII figuran los resultados obtenidos por estos análisis.

TABLA VII

Composición de las harinas de habas, algarrobas, maíz y cebada empleadas en las experiencias.

	HABAS	ALGARROBAS	MAIZ	CEBADA
Sustancia seca %	89,2	89,3	89,7	90,70
Proteína bruta %	24,4	25,6	9,12	11,1
Fibra bruta %	7,0	4,0	3,0	6,5
Grasa bruta %	2,0	2,1	4,6	2,4
Cenizas %	3,5	2,3	1,1	2,1

Los datos de contenido en proteína bruta han sido utilizados para calcular los niveles correspondientes de proteína en las dietas.

La formulación de las dietas se ha hecho ateniéndose a las normas sobre necesidades nutritivas para el crecimiento de las ratas que fija el National Research Council.⁵²

Como puede observarse, en la composición de las raciones se ha procurado en la medida que ha sido posible mantener constantes y en equilibrio, de acuerdo con las necesidades nutritivas de las ratas, todos los constituyentes, otros que las proteínas para evitar cualquier irregularidad en la apetecibilidad, digestibilidad y rendimiento energético de las raciones, que pudiera falsear los resultados finales perseguidos.

Puesto que en cierto modo la inclusión de las distintas fuentes de proteína en la dieta se ha hecho a costa del almidón de maíz y dado que existen diferencias entre unas y otro en lo que a aporte energético respecta, el aporte energético de las raciones ha sido mantenido siempre entre 3,7 y 3,8 kilocalorías digestibles por gramo de alimento merced a las variaciones pertinentes en la proporción de grasa adicionada.

El contenido energético de las dietas se ha calculado en kilocalorías digestibles en lugar de metabolizables por carecer de datos sobre el aporte calórico en términos de energía metabolizable de algunos ingredientes de las dietas. Los cálculos de contenido energético de cada una de las dietas se han hecho, pues, a partir de los siguientes supuestos:

a) Un kilogramo de nutrientes digestibles totales (T D N) equivale a 4.400 kcal. digestibles (National Research Council.⁵²).

b) En las dietas sintéticas para las ratas alrededor del 95 por 100 de la energía bruta es digestible (SIBBALD y col.⁵³)

El National Research Council cifra las necesidades energéticas de las ratas en crecimiento en 4,0 kcal. de energía bruta por gramo de alimento fresco. Es por ello que, teniendo en cuenta el supuesto anterior, hemos asignado en nuestras raciones 3,7-3,8 kcal. digestibles por gramo.

Por otra parte, teniendo en cuenta la influencia que el ballast celulósico ejerce sobre la digestibilidad de las proteínas, lo que, como ya reseñamos en otro lugar, puede dar lugar a falseamientos de los resultados si existen grandes diferencias en el mismo entre las dietas, hemos procurado, especialmente dentro de un mismo experimento, donde los resultados son sometidos a comparación entre sí, uniformizar el contenido de fibra mediante la adición en las proporciones precisas de celulosa en polvo libre de nitrógeno.

A continuación exponemos las dietas que han sido empleadas en cada uno de los experimentos realizados.

Experimento I. En la tabla VIII figuran los ingredientes y la composición de las dietas empleadas para determinar el nivel óptimo de proteína de habas para una máxima eficacia proteica. Las dietas contenían respectivamente los siguientes niveles de proteínas: 5,07, 7,12, 9,15; 11,18, 13,21, 15,25, 17,28 y 19,31 por 100.

Experimento II. Las dietas empleadas en esta experiencia figuran en la tabla IX. Como puede observarse, una de ellas (dieta 9) está libre de Nitrógeno absolutamente. La dieta 10 tiene como fuente de proteína harina de semillas de habas. La dieta 11 tiene como fuente proteica harina de semillas de algarrobas. Estas dos últimas dietas contienen 13,21 y 13 por 100 de proteína respectivamente. Este nivel de proteína se ha establecido teniendo en cuenta que es el óptimo para una máxima eficacia proteica, según los resultados obtenidos en la experiencia anterior, para este tipo de proteínas.

Experimento III. Para el estudio de las relaciones suplementarias entre las proteínas de las leguminosas, habas y algarrobas, y las de los cereales, cebada y maíz, se han confeccionado las dietas que figuran en la tabla X. Ha sido preciso equilibrar todas las dietas al nivel

de alrededor de 7 por 100 de proteína a causa del bajo contenido de este principio en los cereales y para equiparar a todas ellas en aquellos factores que pueden afectar a los resultados finales: apetecibilidad, aporte energético, ballast celulósico, etc.

Las dietas 12, 13, 14 y 15 contienen las proteínas de origen único. Las dietas 16, 17, 18 y 19 tienen una fuente mixta de proteína: habas-maíz, algarrobas-maíz, habas-cebada y algarrobas-cebada, respectivamente. En todas éstas la proporción proteína leguminosa/proteína cereal es de 1 : 1. Esta proporción ha sido elegida habida cuenta de que es aproximadamente aquella que se encuentra en las raciones normales para alimentación del ganado.

Todas las dietas fueron suplementadas, en la proporción que en ellas se indica, con las mezclas de minerales y vitaminas que figuran en las tablas XI y XII respectivamente.

TABLA VIII
Composición de las dietas utilizadas en la determinación del nivel óptimo de habas, para máxima eficacia proteica.
Experimento I.

INGREDIENTES	(1) Nivel 5%.	(2) Nivel 7%.	(3) Nivel 9%.	(4) Nivel 11%.	(5) Nivel 13%.	(6) Nivel 15%.	(7) Nivel 17%.	(8) Nivel 19%.
	%	%	%	%	%	%	%	%
H. de habas	20,8	29,2	37,50	45,8	54,2	62,5	70,8	79,2
Almidón de maíz	53,6	44,8	36,1	27,4	18,6	9,9	1,2	—
Azúcar	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	2,9
Aceite de oliva	4,0	5,0	6,0	7,0	8,0	9,0	10,0	10,5
Celulosa	4,2	3,6	3,0	2,4	1,8	1,2	0,6	—
Mezcla mineral *	3,4	3,4	3,4	3,4	3,4	3,4	3,4	3,4
Mezcla vitaminica **	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0

COMPOSICION:				
Proteína (N × 6,25) %	5,07	7,12	9,15	11,18
Energía digestible. Kcal/gr.	3,7	3,8	3,8	3,7
Fibra bruta %	5,54	5,54	5,54	5,54

* Composición según se indica en la tabla XI.
** Composición según se indica en la tabla XII.

TABLA IX

Composición procentual de las dietas utilizadas en la determinación de los C. E. P. y R. P. N.: de la proteína de Habas y Algarrobas.

Experimento II.

INGREDIENTES	(9) Dieta libre de Nitrógeno %	(10) Dieta con Habas %		(11) Dieta con Algarrobas %
		(10) Dieta con Habas %	(11) Dieta con Algarrobas %	
H.ª de Habas (24,4 %)	—	54,2	—	—
H.ª de Algarrobas (25,6 %)	—	—	50,8	—
Almidón de maíz	74,1	20,4	22,3	—
Aceite de oliva	5,0	8,0	8,0	—
Azúcar	10,0	10,0	10,0	—
Celulosa	3,5	—	1,5	—
Mezcla mineral *	3,4	3,4	3,4	—
Mezcla vitamínica **	4,0	4,0	4,0	—

COMPOSICION:	
Proteína (N \times 6,25) %	—
Energía digestible. Kcal/gr.	3,8
Fibra bruta %	3,4

* Composición según se indica en la tabla XI.

** Composición según se indica en la tabla XII.

TABLA X

Composición procentual de las dietas utilizadas para la determinación del valor suplementario entre las proteínas de habas y algarrobas y las de cebada y maíz. Experimento III.

INGREDIENTES	(12) Dieta Habas	(13) Dieta Algarro- bas		(15) Dieta Maíz	(16) Dieta Cebada	(17) Dieta Maíz + Habas	(18) Dieta Cebada + Habas	(19) Dieta Cebada + Algarro- bas
		(13) Dieta Algarro- bas	(14) Dieta Maíz					
Habas	29,2	—	27,35	—	—	14,6	—	14,6
Algarrobas	—	—	—	79,1	—	39,5	—	—
Maíz	—	—	—	—	64,145	—	39,5	—
Cebada	—	—	—	—	8,025	18,1	18,3	32,07
Almidón de maíz	44,8	45,25	—	—	10,0	2,1	10,0	26,39
Azúcar	10,0	10,0	—	—	5,5	8,0	9,0	10,0
Aceite de oliva	5,0	5,5	—	—	5,5	3,4	1,43	7,0
Celulosa	3,6	4,5	—	—	3,6	3,4	3,4	7,5
Mezcla mineral *	3,4	3,4	—	—	3,4	3,4	3,4	3,03
Mezcla vitamínica **	4,0	4,0	—	—	4,0	4,0	4,0	3,4
COMPOSICION:								
Proteína (N \times 6,25) %	7,12	7,0	7,21	—	7,12	7,16	7,16	7,12
Energía digest. Kcal/gr.	3,7	3,7	3,7	—	3,7	3,7	3,7	3,7
Fibra bruta %	5,54	5,54	5,54	—	5,54	5,54	5,54	5,54

Dietas 16, 17, 18 y 19: Proteína leguminosa: Proteína cereales = 1 : 1.

* Composición según se indica en la tabla XI.

** Composición según se indica en la tabla XII.

TABLA XI

Mezcla mineral para suplementar 1 Kg. de pienso.

PO ₄ H Ca	20,35 gr.
PO ₄ H ₂ K	7 gr.
CO ₃ Ca	3 gr.
Cl Na	1,5 gr.
Mg. O	0,7 gr.
SO ₄ Mn. H ₂ O	0,3 gr.
SO ₄ Fe. 7 H ₂ O	0,25 gr.
SO ₄ Cu. 5 H ₂ O	0,30 gr.
SO ₄ Zn. 7 H ₂ O	0,10 gr.
I O ₃ K	0,5 mgr.

TABLA XII

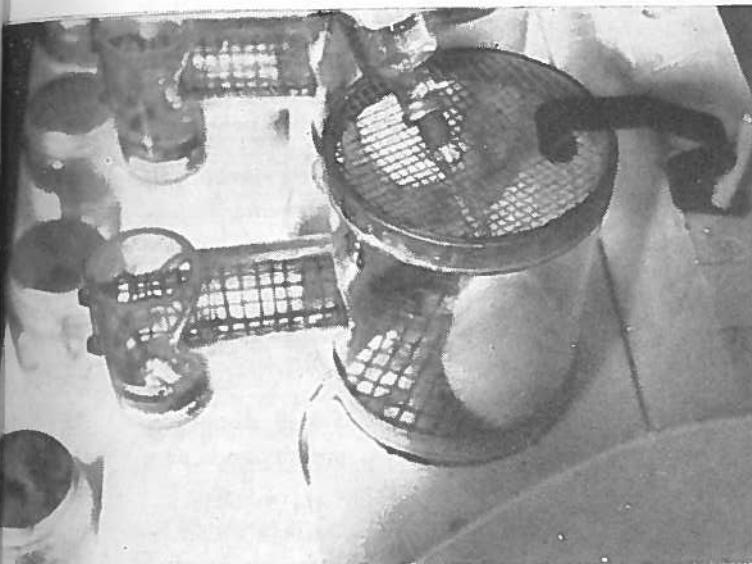
Mezcla de vitaminas para suplementar 1 Kg. de pienso.

Vitamina A	4.200	U. I.
Vitamina D	2.000	U. I.
Vitamina E	120	mgr.
Vitamina K	0,2	mgr.
Vitamina B ₁	2,5	mgr.
Vitamina B ₂	5,0	mgr.
Vitamina B ₆	2,4	mgr.
Acido nicotínico	30	mgr.
Acido pantoténico	12	mgr.
Cloruro de colina	1.500	mgr.
Vitamina B ₁₂	10	gammas
Almidón de maíz c. s. p.	40	gr.

Fotografía n.º 1



Fotografía n.º 2



Fotografía n.º 3



3. Alojamiento de los animales.

Durante los períodos experimentales las ratas fueron alojadas individualmente en jaulas metabólicas. Estas jaulas corresponden al tipo descrito por SCHILLER⁶³ para la realización de balances de Nitrógeno. Fabricadas en material de plástico transparente, constan en esencia de tres cilindros. Uno de los cilindros, el mayor, con un diámetro de 11,5 centímetros y una altura de 15,0 centímetros, situado verticalmente y que lleva adosadas a ambas bocas una tapa y un fondo de tela metálica (rejilla de alambre de un centímetro de luz), constituye el recinto donde habitualmente permanece el animal. En comunicación con éste, lateral y perpendicularmente a él, va un segundo cilindro, de 4,2 centímetros de diámetro y una longitud de 6,0 centímetros, que permite a la rata el acceso desde el primero al tercer cilindro, también vertical, de nueve centímetros de alto por 4,2 de diámetro y en el cual va adosado el comedero.

El cilindro intermedio horizontal, lleva adosado interiormente otro cilindro fijo de malla de alambre. Este dispositivo, juntamente con una rejilla que se coloca en el comedero sobre el alimento, impide que la rata desperdicie el alimento al no poder arrastrarlo con las manos hacia atrás y verse forzada a tomarlo con la lengua. Este hecho es de una gran importancia dado que la significación de los resultados depende esencialmente de la exactitud con que se controle el consumo de pienso.

Por no ser requerido para nuestras experiencias el dispositivo separador de heces y orina diseñado por SCHILLER, prescindimos aquí de su descripción.

En las fotografías 1, 2, 3, se pueden observar los detalles de las jaulas según han sido descritas y utilizadas por nosotros en nuestras experiencias.

4.—Análisis estadísticos.

Los resultados obtenidos en cada uno de los experimentos han sido sometidos a estudio estadístico, según los métodos que a continuación se especifican:

Experimento I.—Se ha calculado el error standard de las medias y se ha efectuado una prueba de significación de las diferencias

entre los coeficientes de eficacia proteica según el método del análisis de la covarianza, teniendo en cuenta la regresión de los aumentos de peso, y por tanto de los coeficientes de eficacia proteica, sobre el peso inicial de los animales.

Por medio del coeficiente obtenido para esta regresión se han calculado los coeficientes de eficacia proteica medios ajustados a un peso inicial común a todos los grupos.

Experimento II.—En esta prueba fue determinado igualmente el error standard de las medias y los coeficientes de eficacia proteica fueron sometidos a una prueba de significación según el método del análisis de la varianza. Asimismo, y a partir del valor de F hallado en el análisis anterior, se ha calculado el valor de la "t de Student".

Experimento III.—Se ha determinado el error standard de las medias de coeficientes de eficacia proteica y las diferencias entre éstas fueron sometidas a una prueba de significación según el método del análisis de la varianza.

Este mismo método fue seguido para estudiar la significación de las diferencias entre las medias de ganancia en peso observadas.

Habida cuenta de que las ganancias en peso son función, en parte, de la cantidad de la proteína ingerida, se calcularon para cada grupo las medias de ganancia en peso ajustadas a un mismo nivel de ingestión de proteína, por medio de un coeficiente de regresión dentro de los grupos. Las diferencias entre las medias de ganancia en peso ajustadas fueron también sometidas a una prueba de significación según el método de análisis de la covarianza.

Todos los cálculos y análisis estadísticos se han realizado según los métodos y normas que en cada caso señala SNEDECOR⁶⁶.

5. Marcha experimental.

Para la preparación de las raciones fueron adquiridos en cantidad suficiente las semillas y granos que habían de constituir las distintas fuentes de proteína estudiadas; siendo molidas en nuestro laboratorio hasta un grado de finura tal que resultase imposible a las ratas hacer una selección de las partículas. Las harinas así obtenidas fueron analizadas para determinar su contenido en los distintos principios inmediatos, realizándose a partir de tales análisis la formulación de las dietas experimentales según se especifica en el apartado V, 2.

Como ya hemos indicado en otro lugar las ratas fueron alimentadas con una dieta normal de crecimiento, ajustada a las necesidades nutritivas establecidas por el N. R. C.⁵², desde el destete hasta alcanzar el peso apropiado para la iniciación de las experiencias.

Dos días antes del comienzo de las experiencias los animales eran introducidos en las jaulas individuales. Al final de esta fase de adaptación las ratas eran sometidas a un período de ayuno de diez horas, tras el cual se efectuaban las pesadas individuales correspondientes, siendo éste el peso inicial sobre el cual se calculó al final de cada experiencia la ganancia de peso.

A partir de este peso inicial en ayunas, dentro de cada experimento las ratas, todas ellas machos, eran distribuidas entre los distintos grupos que componían el mismo, de tal manera que las diferencias entre los pesos medios de aquéllos fuesen mínimas y que todas y cada una de las camadas de ratas participaran con igual número de individuos en cada uno de los grupos experimentales.

Efectuada la distribución de las ratas de esta manera, se hacía la primera administración de las dietas problemas. Durante toda la fase experimental la alimentación fue "ad libitum". Con tal objeto, diariamente y siempre a la misma hora se les depositaba en el comedero una cantidad adicional de alimentos en medida tal que en ningún caso ni en ningún momento pudiera éste agotarse en el comedero.

El alimento fue siempre administrado en forma de harina seca.

El agua, fresca y limpia, estuvo continuamente a libre disposición de los animales.

La temperatura fue mantenida en todo momento entre 21 y 22°C.

En todos los casos las ratas consumieron las dietas problemas durante diez días consecutivos.

Al final de esta fase experimental los animales fueron sometidos nuevamente a un período de ayuno de diez horas, transcurrido el cual eran pesados, obteniéndose así el peso final utilizado en los cálculos.

Para realizar las pesadas de los animales se utilizaron balanzas Mobba, tipo Semi, de sensibilidad de 0,5 gramos.

VI.—RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1.—EXPERIMENTO I.—Nivel óptimo de proteínas de habas en la dieta para una máxima eficacia proteica.

Puesto que las proteínas difieren entre sí en cuanto al nivel dietético a que alcanzan su máxima eficacia, hemos llevado a cabo esta prueba para determinar el efecto de diferentes niveles de ingestión de proteína de una de las leguminosas objeto de estudio, sobre el coeficiente de eficacia proteica (C. E. P.)

La proteína de las semillas de habas ha sido estudiada a los siguientes niveles en la dieta: 5,07, 7,12, 9,15, 11,18, 13,21, 15,25; 17,28 y 19,31 por 100.

Las dietas correspondientes aportando estos niveles de proteína se detallan en la tabla VIII. Cada una de estas dietas fue administrada a un grupo experimental constituido por seis ratas machos.

En la tabla XIII figuran las determinaciones individuales de ganancia en peso y coeficientes de eficacia proteica dentro de cada uno de los grupos. Los datos correspondientes al nivel del 7,12 por 100 han sido tomados del experimento III.

En la tabla XIV figuran los valores medios para cada uno de los grupos de la ganancia en peso y los coeficientes de eficacia proteica. Teniendo en cuenta que la tasa de crecimiento (y por consiguiente los C. E. P.) durante un período determinado varía con el peso inicial, los coeficientes de eficacia proteica hallados experimentalmente fueron ajustados a un peso inicial común de 56,60 gramos (media aritmética de todos los animales) por medio de un coeficiente de regresión dentro de los grupos. El método de cálculo de los C. E. P. ajustados se realizó según se indica en el cuadro I. Los coeficientes de eficacia proteica ajustados así obtenidos figuran también en la tabla XIV.

Como puede observarse (tabla XIV) el mayor C. E. P. ($1,47 \pm 0,08$) fue obtenido con el nivel de 13,21 por 100 de proteína en la dieta, aunque la mayor ganancia en peso resultó con 19,31 por 100. En líneas generales el C. E. P. fue aumentando progresivamente desde $0,42 \pm 0,13$ para el nivel de proteína de 5,07 por 100 hasta un máximo de $1,47 \pm 0,08$ para el 13,21 por 100, disminuyendo a partir de aquí a medida que aumenta el nivel de proteína de la dieta.

En la columna en que figuran los C. E. P. obtenidos directamente a partir de los datos proporcionados experimentalmente por las ratas, puede observarse que los coeficientes de eficacia proteica corres-

pondientes a los niveles de proteína 7,12 y 9,15 por 100 presentan, comparativamente entre sí, un valor diferente a lo que podría esperarse. Así el C. E. P. obtenido con 7,12 por 100 resultó ser mayor que el encontrado para el 9,15 por 100, cuando según el orden de presentación general de todos los niveles experimentados cabría esperar lo con-

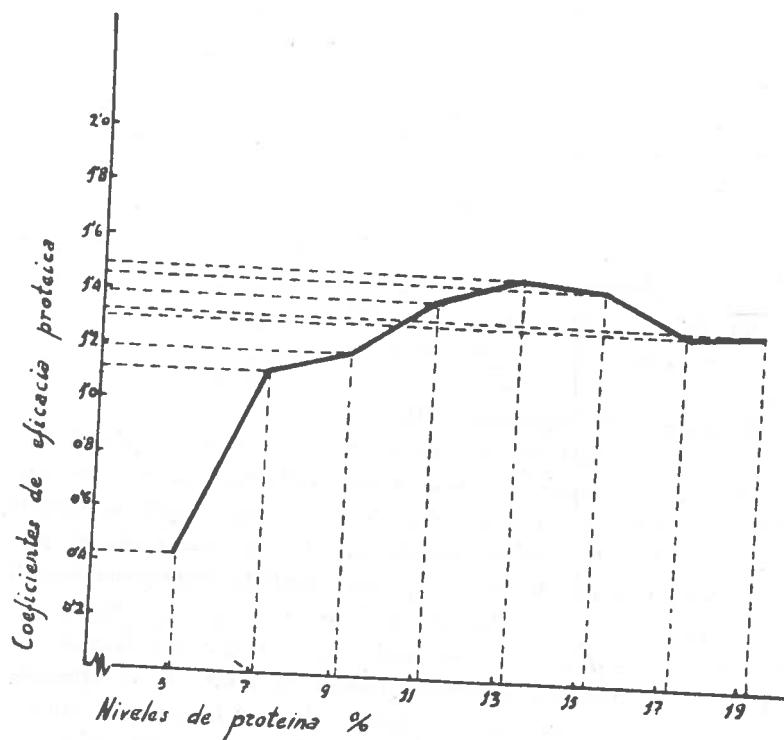


FIGURA III

Efecto sobre el coeficiente de eficiencia proteica de distintos niveles en la dieta de proteína de semillas de habas. Según los datos de C. E. P. ajustados que figuran en la tabla XIV.

trario. Lo mismo puede decirse del valor 1,29 hallado para el 17,28 por 100 respecto al 1,34 que se obtuvo con el 19,31 por 100. Estas anomalías fueron sin duda alguna debidas a los inferiores pesos iniciales (debido a la edad únicamente) de que se partió en ambos grupos (7,12 y 19,31 por 100) respecto a los demás, pues la tasa de crecimiento es proporcionalmente mayor cuanto menor es la edad y, por

tanto, el peso de las ratas⁵². Naturalmente, este hecho se refleja en un mayor C. E. P. La comparación de los C. E. P. hallados experimentalmente con los ajustados corrobora este aserto, por cuanto que al ajustarlos todos a un peso inicial común de 56,60 gramos aparecen 1,11 para el nivel del 7,12 por 100, teóricamente normal en relación al 1,19 correspondiente al 9,15 por 100, disminuyendo también considerablemente la diferencia anormal que experimentalmente se encontró entre los grupos que recibieron 17,28 por 100 y 19,31 por 100.

En la figura III, aparecen representados gráficamente los C. E. P. ajustados calculados para cada uno de los niveles. Como puede observarse resulta una curva similar a las descritas anteriormente en otro capítulo halladas por otros autores^{9 27 54}, y para otras proteínas. El hecho de que los valores más elevados de C. E. P. se encuentren desplazados hacia los niveles más altos de proteína en la ración está en justa correspondencia con el solamente mediano valor nutritivo de la proteína de semillas de habas estudiada.

Con el fin de valorar estadísticamente las diferencias entre los C. E. P. ajustados correspondientes a todos y cada uno de los niveles de proteína, hemos realizado un estudio estadístico según el análisis de la covarianza que figura en el cuadro II. (Se ha empleado este método teniendo en cuenta la regresión de los aumentos de peso sobre el peso inicial de las ratas).

El valor obtenido de $F = 8,35$, altamente significativo, indica la existencia de individuos o grupos pertenecientes a poblaciones distintas. Calculando el "intervalo fiducial" hemos obtenido un valor de $t_{0,05} \cdot s \bar{x} = 0,21$, valor que sirve para diferenciar los grupos que pertenecen a poblaciones distintas. Por consiguiente cualquier diferencia entre las medias es significativa al nivel de 0,05 si excede en $\pm 0,42$.

TABLA XIII

Efecto de varios niveles de proteínas de semillas de habas en la dieta sobre las ganancias de peso y coeficientes de eficacia proteica (C. E. P.) Determinaciones individuales.

Dieta n.º	Niveles Proteína %	Rata n.º	Peso inicial grs.	Peso final grs.	Ganancia en 10 días grs.	Alimento total ing. grs.	Proteína total ing. grs.	C. E. P.
1	5,07	1	63,0	67,0	4,0	97,5	4,94	0,80
		2	70,0	71,0	1,0	94,0	4,76	0,21
		3	69,0	67,5	1,5	96,5	4,89	—
		4	48,0	49,5	1,5	48,0	2,43	0,61
		5	49,0	52,0	3,0	68,0	3,44	0,87
		6	48,5	50,5	2,0	63,0	3,19	0,62
2	7,12	7	51,5	58,5	7,0	66,5	4,73	1,47
		8	51,0	57,5	6,5	60,5	4,30	1,51
		9	49,0	56,5	7,5	64,0	4,55	1,64
		10	48,0	56,0	8,0	78,5	5,59	1,43
		11	49,5	54,0	4,5	62,5	4,45	1,01
		12	47,5	48,0	0,5	54,0	3,84	0,13
3	9,15	13	70,0	83,0	13,0	114,0	10,43	1,24
		14	68,5	79,0	10,5	110,5	10,11	1,04
		15	66,0	77,0	11,0	107,5	9,83	1,12
		16	52,5	61,5	9,0	75,0	6,86	1,31
		17	46,5	55,5	9,0	70,5	6,45	1,39
		18	49,5	55,0	5,5	64,0	5,86	0,96
4	11,18	19	65,0	80,5	15,5	107,5	12,01	1,29
		20	56,0	70,5	14,5	101,5	11,34	1,27
		21	80,0	99,5	19,5	127,5	14,25	1,37
		22	43,0	56,0	13,0	73,0	8,16	1,59
		23	53,5	68,5	15,0	79,0	8,83	1,70
		24	51,5	60,0	8,5	68,5	7,66	1,11
5	13,21	25	58,0	80,0	22,0	113,0	14,92	1,47
		26	67,0	90,0	23,0	125,5	16,57	1,38
		27	76,5	94,0	17,5	115,5	15,25	1,16
		28	47,0	64,0	17,0	80,0	10,57	1,61
		29	48,0	63,0	15,0	78,0	10,30	1,46
		30	52,5	74,0	21,5	93,0	12,28	1,75

Dieta n.º	Niveles Proteína %	Rata n.º	Peso inicial grs.	Peso final grs.	Ganancia en 10 días grs.	Alimento total ing. grs.	Proteína total ing. grs.	C. E. P.
6	15,25	31	67,5	99,0	31,5	134,0	20,43	1,54
		32	59,5	81,0	21,5	102,5	15,63	1,37
		33	71,0	90,0	19,0	105,5	16,08	1,18
		34	49,0	70,5	21,5	94,5	14,41	1,49
		35	53,0	75,5	22,5	91,5	13,95	1,61
		36	46,5	64,5	18,0	80,5	12,28	1,46
7	17,28	37	63,0	87,5	24,5	115,0	19,87	1,23
		38	64,0	89,0	25,0	114,5	19,78	1,26
		39	69,0	86,5	17,5	101,0	17,45	1,00
		40	49,0	69,5	20,5	76,0	13,13	1,56
		41	49,5	69,5	20,0	87,5	15,12	1,32
		42	50,0	71,5	21,5	90,5	15,64	1,37
8	19,31	43	63,0	88,0	25,0	102,0	19,69	1,26
		44	62,0	89,0	27,0	111,5	21,53	1,25
		45	59,0	87,5	28,5	123,0	23,75	1,20
		46	47,0	70,0	23,0	84,5	16,32	1,41
		47	50,0	73,5	23,5	88,0	16,99	1,38
		48	50,0	77,5	27,5	91,5	17,64	1,56

Las determinaciones que figuran al nivel del 7,12 por 100 proceden del exp. III.

TABLA XIV

Valores medios de ganancia en peso y Coeficientes de Eficacia Proteica para los distintos niveles de proteinas de semillas de habas en la dieta.

Dieta n. ^a	Nivel de Proteina en la dieta %	Peso medio inicial grs.	Peso medio final grs.	Ganancia en 10 días grs.	Alimento total ing. grs.	Coeficientes de eficacia Proteica		
						Protina total ing. grs.	Media con su error standard	Ajustados *
1	5,07	57,91	59,58	1,67	77,83	3,94	0,42 ± 0,13	0,43
2	7,12	49,41	55,08	5,67	64,33	4,58	1,20 ± 0,23	1,11
3	9,15	58,83	68,50	9,67	90,25	8,25	1,17 ± 0,06	1,19
4	11,18	58,16	72,50	14,34	92,83	10,37	1,38 ± 0,08	1,39
5	13,21	58,16	77,50	19,34	100,83	13,31	1,47 ± 0,08	1,48
6	15,25	57,75	80,08	22,33	101,41	15,47	1,44 ± 0,06	1,45
7	17,28	57,41	78,91	21,50	97,41	16,83	1,29 ± 0,07	1,30
8	19,31	55,16	80,91	25,75	100,08	19,32	1,34 ± 0,05	1,32

CUADRO II

Análisis de la covarianza y prueba de significado de diferencias entre coeficientes de eficacia proteica ajustados.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados y productos		Errores de estimación		
		S_{x^2}	$S_{x \cdot y}$	S_{y^2}	Suma de cuadrados (1)	Grados de libertad
Total	47	4164,48	—43,117	7,06154	6,6154	46
Raciones	7	403,48	—0,431	3,9301	—	—
Dentro de lotes (error) ..	40	3761	—42,686	3,1317	2,6473	39
Para la prueba del significado de las medias ajustadas.					3,9681	7
						0,0678
(1) $S_{y^2} - \frac{(S_{xy})^2}{S_{x^2}}$		$F = 0,5668 / 0,0678 = 8,35 **$			0,5668	

2.—EXPERIMENTO II.—Coeficientes de eficacia proteica (C. E. P.) y Retención proteica neta (R. P. N.) de las proteínas de semillas de habas y de algarrobas.

En la experiencia anterior se halló el nivel óptimo de proteína de habas para una máxima eficacia proteica (C. E. P. máximo) que resultó estar situado alrededor del 13 por 100. En el presente trabajo nos hemos propuesto llevar a cabo la determinación, a este nivel óptimo, del valor nutritivo de las proteínas de habas y algarrobas por los métodos de Coeficiente de eficacia proteica (C. E. P.) y Retención proteica neta (R. P. N.) simultáneamente, según fueron anteriormente descritos. Por la similitud teórica entre la calidad de proteína de ambas leguminosas, y a efectos comparativos, hemos considerado oportuno estudiar al mismo nivel en la ración la proteína de algarrobas.

Con tal objeto, 18 ratas machos al destete, con un peso medio de 51,30 gramos, fueron distribuidas en tres grupos: uno de los grupos recibió una dieta libre de nitrógeno. Otro grupo recibió una dieta conteniendo la proteína de habas. Finalmente el tercer grupo recibió la dieta con la proteína de algarrobas. La composición de estas dietas se especifica en la tabla IX.

En la tabla XV figuran las determinaciones individuales de variaciones de peso de los tres grupos experimentales, juntamente con los C. E. P. correspondientes a las dietas cuya fuente proteica eran habas o algarrobas. Como puede observarse (tabla XV), en el grupo que recibió la dieta libre de nitrógeno todos los animales presentaron al final pérdida de peso (signo negativo). Por el contrario hubo crecimiento y aumento de peso en todas las ratas pertenecientes a los grupos que recibieron cualquiera de las dos proteínas objeto de estudio.

En la tabla XVI figuran los valores medios de ganancia en peso de las ratas y de los C. E. P. y R. P. N. obtenidos para las dietas que incluían una u otra proteína.

Como puede observarse en la tabla XVI, el valor nutritivo de la proteína de semillas de habas resultó ser $1,39 \pm 0,13$ expresado como C. E. P. y de 2,04 según el método de R. P. N.; para la proteína de algarrobas se obtuvieron $1,52 \pm 0,11$ y 2,12 respectivamente.

Con el fin de valorar estadísticamente la diferencia entre los coeficientes de eficacia proteica (C. E. P.) obtenidos para ambas leguminosas, hemos realizado un estudio estadístico según el análisis de la varianza que figura en el cuadro III.

A partir del valor de F hemos calculado también el valor de la "t de Student". Los valores de $F = 0,659$ y de $t = 0,812$ indican que la diferencia existente entre los coeficientes de eficacia proteica no es significativa; siendo para el valor de t obtenido $0,5 > P > 0,4$.

CUADRO III

Análisis de la varianza de los C. E. P. de las proteínas de habas y algarrobas y prueba de significación de la diferencia por el método de la t.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio
Total	11	0,9741	0,0885
—	—	—	—
Dietas (medias de grupos) ...	1	0,0602	0,0602
Individuos	10	0,9139	0,0913
$F = 0,6593; t = \sqrt{F} = 0,8120 (0,5 > P > 0,4)$			

Los resultados obtenidos concuerdan con las cifras indicadas por ABRAMS¹. Este autor afirma que para las leguminosas en general el C. E. P. puede establecerse entre 1,0 y 1,5.

El coeficiente de eficacia proteica hallado por nosotros para la proteína de semillas de habas españolas ($1,39 \pm 0,13$) es sólo ligeramente superior al observado por ADOLPH, SHAMMAS y HALABY² en Líbano para esta misma semilla (1,17).

Por otra parte, dado que BANERJEE³ calculó para varias leguminosas, entre ellas los guisantes, un coeficiente de eficacia proteica comprendido entre 1,16 y 1,87, los valores hallados por nosotros para las proteínas de habas y de algarrobas (1,39 y 1,52 respectivamente) parecen indicar la existencia de similitud entre el valor nutritivo de estas proteínas y el de los guisantes. Estos resultados corroboran y coinciden con, en lo que a las habas se refiere, las opiniones de autores clásicos tales como MORRISON⁵¹, STAHLIN⁶⁸ y ABRAMS¹ quienes señalan que las semillas de habas son similares en composición y valor nutritivo a las de los guisantes.

Sin embargo, hacemos notar la amplia divergencia entre los valores determinados por nosotros y los hallados por PUJOL y VARELA⁵⁰, sobre estas mismas semillas. Estos autores encontraron para la proteína de habas españolas un coeficiente de eficacia proteica de $0,43 \pm 0,22$ frente al $1,39 \pm 0,13$ hallado por nosotros. Por lo que respecta a las algarrobas, PUJOL y VARELA no obtienen ningún resultado concluyente acerca del valor nutritivo de la proteína de estas semillas por la muerte durante su experiencia del 50 por 100 de los animales que constituyan el grupo experimental. Merece ser destacada además, la amplia heterogeneidad de los resultados que en el caso concreto de la proteína de habas obtuvieron PUJOL y VARELA. Dentro del grupo que recibió esta proteína, estos autores obtuvieron los siguientes coeficientes de eficacia proteica individuales: 0,40, 1,10, 0,10 y 0,21 lo cual supone una variabilidad respecto a la media de 100 por 100, que es extremadamente elevada. Los coeficientes de eficacia proteica individuales obtenidos por nosotros para esta misma proteína que figuran en la tabla XV presentaron una variabilidad de sólo 23 por 100.

La relación existente entre el Valor Biológico y el Coeficiente de Eficacia Proteica, expresado por BLOCK y MITCHELL¹³ según una curva de regresión cuya fórmula es:

$$Y = 49,9 + 10,53 X$$

donde Y = Valor Biológico y X = Coeficiente de Eficacia Proteica, permite prever, dentro de los errores inherentes al método, el Valor Biológico de cada una de las proteínas objeto de este trabajo.

Así resultaría:

Para las algarrobas: $V. B. = 49,9 + 10,53 (1,52) = 65$.

Para las habas: $V. B. = 49,9 + 10,53 (1,39) = 64$.

Estos Valores Biológicos tal vez sean mayores que los reales, pues, como ya indicamos en otro lugar, el coeficiente de eficacia proteica tiene tendencia a ser bastante elevado para las proteínas de bajo valor nutritivo.

Aún así estos valores resultan en cierto modo comparables a los obtenidos por ESH y SOH²⁸ para las proteínas de semillas de otras siete leguminosas distintas. Estos autores hallaron que los Valores Biológicos oscilaban desde 41,6 por 100 para las almortas hasta 64 por 100 para las judías y garbanzos.

Los valores de C. E. P. y R. P. N. obtenidos en nuestra experiencia revelan el relativamente bajo valor nutritivo de las proteínas de semillas de habas y algarrobas en comparación con otros alimentos concentrados proteicos, animales o vegetales. Estos resultados son, sin duda, debidos a un desequilibrio entre los aminoácidos que componen las proteínas en cuestión, para satisfacer las necesidades nutritivas o, dicho de otro modo, al insuficiente aporte de alguno o algunos de los aminoácidos esenciales.

La principal deficiencia de las proteínas de estas leguminosas radica en los aminoácidos sulfurados, concretamente en metionina, según ha sido determinada por numerosos autores⁴³⁻⁶⁰, etc. y demostrada en experiencias biológicas por medio de la suplementación con metionina por otros,²⁰⁻⁶², etc.

TABLA XV

Experimento II.—Determinaciones individuales de ganancia en peso y coeficientes de eficacia proteica (C. E. P.) para las proteínas de habas y algarrobas.

Fuente de proteína	Ratas n.º	Peso inicial gr.	Peso final gr.	Ganancia en 10 días gr.	Alimento total ing. gr.	Proteína total ing. gr.	C. E. P.
Dieta núm. 9	1	54,0	47,0	-7,0	56,5	0	—
	2	44,5	38,0	-6,5	43,5	0	—
	3	50,0	43,5	-6,5	57,0	0	—
	4	50,5	42,0	-8,5	50,0	0	—
	5	52,0	46,5	-5,5	52,0	0	—
	6	57,5	49,5	-8,0	52,0	0	—
Dieta núm. 10	7	54,5	61,0	15,5	81,0	10,70	1,45
	8	51,0	65,0	14,4	80,5	10,63	1,32
	9	55,5	67,5	12,0	76,5	10,00	1,19
	10	52,5	60,0	7,5	68,0	8,98	0,84
	11	54,5	74,5	20,0	93,0	12,28	1,63
	12	49,5	69,5	20,0	87,0	14,49	1,74
Dieta núm. 11	13	47,5	66,5	19,0	97,5	12,67	1,49
	14	47,0	72,0	25,0	97,5	12,67	1,97
	15	50,5	68,5	18,0	82,0	10,66	1,68
	16	54,5	68,5	14,0	81,5	10,59	1,32
	17	55,5	70,0	14,5	89,0	11,57	1,23
	18	51,5	66,5	15,0	86,5	11,24	1,33

TABLA XVI

Experimento II.—Valores medios de ganancia en peso, Coeficientes de eficacia proteica (C. E. P.) y Retención proteica neta (R. P. N.) de las proteínas de habas y algarrobas.

Dieta n. ^o	Fuente de proteína	Peso inicial gr.	Peso final gr.	Ganancia en 10 días gr.	Alimento total ingerido gr.	Proteína total ingerida gr.	C. E. P.*	R. P. N.**
9	Libre de nitrógeno .	51,42	44,42	-7,00	51,83	0	—	—
10	Habas	51,42	66,25	14,83	81,00	10,70	1,39 ± 0,13	2,04
11	Algarrobas	51,08	68,67	17,59	89,00	11,57	1,52 ± 0,11	2,12

* C. E. P. = gramos de ganancia en peso
gramos de proteína ingerida

** R. P. N. = ganancia en peso del grupo problema + libre de nitrógeno.
ganancia en peso del grupo problema + libre de nitrógeno.

3.—EXPERIMENTO III

3. 1.—Efectos de suplementación de la proteína de habas con la de maíz y la de cebada.

3. 2.—Efectos de suplementación de la proteína de algarrobas con la de maíz y la de cebada.

Aunque en esta parte de nuestro trabajo pretendemos determinar los efectos de suplementación entre la proteína de habas y la de maíz o cebada, por un lado, y la proteína de estos mismos cereales y la de algarrobas, por otro, sin embargo hemos realizado ambos estudios en una misma experiencia a efectos comparativos y para una mayor facilidad expositiva.

Para la realización de esta prueba fueron utilizadas un total de 48 ratas machos, con un peso medio de 49,64 gramos, distribuidas en ocho grupos de seis animales cada uno. Las distintas fuentes de proteína, o una mezcla de las mismas (leguminosa-cereal), han sido estudiadas y valoradas de acuerdo con el siguiente plan experimental:

Grupo 1.—Recibió la dieta n.º 12. Fuente de proteína: habas.

Grupo 2.—Recibió la dieta n.º 13. Fuente de proteína: algarrobas.

Grupo 3.—Recibió la dieta n.º 14. Fuente de proteína: maíz.

Grupo 4.—Recibió la dieta n.º 15. Fuente de proteína: cebada.

Grupo 5.—Recibió la dieta n.º 16. Fuente de proteína: maíz + habas en la proporción 1 : 1.

Grupo 6.—Recibió la dieta n.º 17. Fuente de proteína: maíz + algarrobas en la proporción 1 : 1.

Grupo 7.—Recibió la dieta n.º 18. Fuente de proteína: cebada + habas en la proporción 1 : 1.

Grupo 8.—Recibió la dieta n.º 19. Fuente de proteína: cebada + algarrobas en la proporción 1 : 1.

En la tabla XVII se recogen las determinaciones individuales de ganancia en peso y coeficientes de eficacia proteica (C. E. P.) llevados a cabo dentro de cada uno de los grupos experimentales.

En la tabla XVIII figuran los valores medios de ganancia en peso y C. E. P. obtenidos sobre los grupos que recibieron una fuente única de proteína. Los C. E. P. encontrados para la proteína de habas ($1,20 \pm 0,23$) y la de algarrobas ($1,09 \pm 0,27$) resultaron inferiores a

los encontrados en el experimento II debido a que en el experimento que estamos discutiendo el nivel de estas proteínas en la dieta era considerablemente inferior al óptimo empleado en aquél. El C. E. P. observado para la proteína del maíz ($1,51 \pm 0,19$) fue aproximadamente del mismo orden que el indicado como normal para esta proteína por algunos autores¹. Sin embargo, el C. E. P. de la proteína de cebada ($2,18 \pm 0,09$) hallado resultó algo superior al indicado por otros autores^{1,2}. Las ganancias en peso por las ratas tuvieron un orden de presentación paralelo a los C. E. P.

En la tabla XIX se recogen los datos medios de ganancia en peso y los C. E. P. observados sobre las proteínas mixtas resultantes de las distintas mezclas leguminosa-cereal. Asimismo, se expresan en esta tabla los valores de C. E. P. que podrían ser esperados para estas mezclas proteicas a partir de los resultados obtenidos para cada una de las proteínas por separado, si no hubieran existido relaciones suplementarias entre las proteínas en cuestión.

Si los C. E. P. esperados teóricamente para las mezclas de proteínas son comparados con los obtenidos en la experiencia, se encuentra que estos últimos superan a los primeros en las siguientes proporciones:

Para la mezcla de habas-maíz, el C. E. P. hallado excede en 79 por 100 al C. E. P. esperado.

Para la mezcla de habas-cebada el C. E. P. hallado excede en 28 por 100 al esperado.

Para la mezcla algarrobas-maíz el C. E. P. hallado excede en 46 por 100 al esperado.

Para la mezcla algarrobas-cebada el C. E. P. hallado excede en 38 por 100 al esperado.

En la figura IV aparecen representados los coeficientes de eficacia proteica (C. E. P.) obtenidos experimentalmente para las distintas mezclas de proteínas, juntamente con los esperados.

Como puede observarse, en todos los casos hubo un considerable efecto de suplementación entre las proteínas de leguminosas y cereales estudiadas, que fue particularmente elevado para la mezcla habas-maíz.

Estos resultados coinciden sustancialmente, en lo que a relación suplementaria se refiere y para la mezcla habas-maíz, con los obtenidos por CHAO-YU CHEM y TSU-CHAI WANG²³ en China, quienes, con una dieta en que la proteína procedía a partes iguales del maíz y de las habas, hallaron una eficacia proteica de 1,59, en contraste con 1,04

para las habas y 0,96 para el maíz cuando se administraban por separado. Como puede comprobarse esto supone una mejora del 59 por 100 sobre el valor que cabría ser esperado teóricamente para la mezcla a partir de los coeficientes de cada una de las proteínas por separado. Sin embargo, es preciso hacer notar que los C. E. P. observados por nosotros para estas mismas proteínas son relativamente más elevados.

El examen conjunto de la tabla XIX y de la figura IV permite destacar el elevado valor nutritivo encontrado para la mezcla de las proteínas de habas y de maíz (C. E. P. = $2,46 \pm 0,14$) similar al indi-

TABLA XVII

Ganancia en peso de las ratas recibiendo proteínas de habas, algarrobas, maíz, cebada, o cualquiera de las mezclas leguminosa-cereal, y coeficientes de eficacia proteica (C. E. P.) de las mismas.

Dieta n.º	Fuente de proteína	Ratas n.º	Peso inicial gr.	Peso final gr.	Ganancia en 10 días gr.	Alimento total ing. gr.	Proteína total ing. gr.	C. E. P.
12	Habas	1	51,5	58,5	7,0	66,5	4,73	1,47
		2	51,0	57,5	6,5	60,5	4,30	1,51
		3	49,0	56,5	7,5	64,0	4,55	1,64
		4	48,0	56,0	8,0	78,5	5,59	1,43
		5	49,5	54,0	4,5	62,5	4,45	1,01
		6	47,5	48,0	0,5	54,0	3,84	0,13
13	Algarrobas	7	54,0	57,0	3,0	55,0	3,85	0,77
		8	49,0	48,5	-0,5	50,0	3,50	—
		9	49,0	56,5	7,5	65,0	4,55	1,64
		10	52,5	62,0	9,5	73,0	5,11	1,85
		11	49,0	52,5	3,5	63,5	4,44	0,78
		12	50,5	56,0	5,5	64,0	4,48	1,22
14	Maíz	13	53,5	58,5	5,0	71,0	5,11	0,97
		14	53,0	58,5	5,5	75,5	5,44	1,01
		15	45,0	52,5	7,5	64,0	4,61	1,62
		16	47,5	54,0	6,5	67,5	4,86	1,33
		17	45,0	56,5	11,5	77,5	5,58	2,06
		18	46,0	58,0	12,0	84,0	6,05	1,98

TABLA XVIII

Dieta n.º	Fuente de proteína	Ratas n.º	Peso inicial gr.	Peso final gr.	Ganancia en 10 días gr.	Alimento total ing. gr.	Proteínas total ing. gs.	C. E. P.
15	Cebada	19	53,0	67,0	14,0	86,0	6,12	2,28
		20	53,0	68,0	15,0	98,0	6,97	2,15
		21	49,0	64,0	15,0	94,0	6,69	2,24
		22	50,0	68,0	18,0	99,0	7,04	2,55
		23	48,0	60,5	12,5	92,5	6,58	1,89
		24	54,0	68,0	14,0	99,5	7,08	1,97
16	Maíz + Habas 1 : 1	25	48,0	70,5	22,5	115,5	8,26	2,72
		26	54,0	71,0	17,0	105,0	7,51	2,26
		27	46,0	55,5	9,5	68,0	4,86	1,95
		28	45,5	56,5	11,0	70,0	5,01	2,19
		29	46,0	65,5	19,5	93,5	6,69	2,91
		30	48,0	65,5	17,5	98,5	7,05	2,48
17	Maíz + Algarrobas 1 : 1	31	51,0	62,0	11,0	90,0	6,44	1,70
		32	51,5	66,0	14,5	93,5	6,69	2,16
		33	49,5	59,5	10,0	73,0	5,22	1,91
		34	49,0	57,5	8,5	74,0	5,29	1,60
		35	43,0	52,5	9,5	74,0	5,29	1,79
		36	45,0	58,0	13,0	81,5	5,83	2,22
18	Cebada + Habas 1 : 1	37	52,5	64,5	12,0	80,0	5,69	2,10
		38	49,0	61,5	12,5	77,5	5,52	2,26
		39	50,5	65,5	15,0	87,5	6,23	2,40
		40	49,0	63,5	14,5	86,0	6,12	2,36
		41	51,5	63,0	11,5	77,5	5,52	2,08
		42	50,5	62,5	12,0	91,0	6,47	1,85
19	Cebada + Algarrobas 1 : 1	43	56,5	70,0	13,5	83,0	5,90	2,28
		44	51,0	62,0	11,0	78,0	5,55	1,98
		45	51,0	66,5	15,5	96,0	6,83	2,26
		46	49,0	66,5	17,5	102,0	7,26	2,41
		47	50,5	63,5	13,0	85,5	6,08	2,13
		48	48,0	63,0	15,0	85,5	6,08	2,46

cado por JONES y DIVINE⁴² para la proteína de soja (2,35). A este respecto, cabe consignar que en un ensayo realizado por nosotros⁷ con cerdos en crecimiento, para comparar dietas en que la fuente principal de proteínas vegetales era maíz + harina de soja frente a maíz + habas, no hallamos diferencia prácticamente entre ambas mezclas de proteínas.

Resultados medios de ganancia en peso y coeficientes de eficacia proteica (C. E. P.) de las proteínas de habas, algarrobas, maíz y cebada.

Dieta n.º	Fuente de Proteína	Peso medio inicial gr.	Ganancia en 10 días gr.	Alimento total ing. gr.	Proteína total ing. gr.	C. E. P.* Media con su error standard
12	Habas	49,41	5,66	64,33	4,57	1,20 ± 0,23
13	Algarrobas	50,66	4,75	61,75	4,32	1,09 ± 0,27
14	Maíz	48,33	8,00	73,25	5,27	1,51 ± 0,19
15	Cebada	51,16	14,75	94,83	6,74	2,18 ± 0,09

* C. E. P. = $\frac{\text{gramos de ganancia en peso}}{\text{gramos de proteína ingerida}}$

TABLA XIX

Resultados medios de ganancia en peso y coeficientes de eficacia proteica (C. E. P.) de las mezclas de proteínas: habas-maíz, algarrobas-maíz, habas-cebada y algarrobas-cebada.

Dieta n.º	Fuente de proteína	Peso medio inicial gr.	Ganancia en 10 días gr.	Alimento total ing. gr.	Proteína total ing. gr.	C. E. P.
					Media con error stand.	Esperado*
16	Maíz + Habas 1 : 1	47,91	16,16	91,75	6,56	2,46 ± 0,14
17	Maíz + Algarrobas 1 : 1	48,16	11,08	81,00	5,79	1,91 ± 0,10
18	Cebada + Habas 1 : 1	50,50	12,91	83,25	5,92	2,18 ± 0,08
19	Cebada + Algarrobas 1 : 1	51,00	14,25	88,33	6,28	2,26 ± 0,07

* Si no hubiese habido efecto suplementario entre las proteínas.

La mezcla leguminosa-cereal con menor valor nutritivo resultó ser la constituida por algarrobas-maíz (C. E. P. = $1,91 \pm 0,10$).

No existió apenas diferencia entre el valor nutritivo de las proteínas mixtas resultantes de las mezclas de habas o algarrobas + cebada, siendo además en estos casos el efecto suplementario menor que cuando estas mismas leguminosas se mezclaron con el maíz. Esto resultó así sin duda debido al elevado valor nutritivo encontrado para la proteína de la cebada empleada en nuestra experiencia.

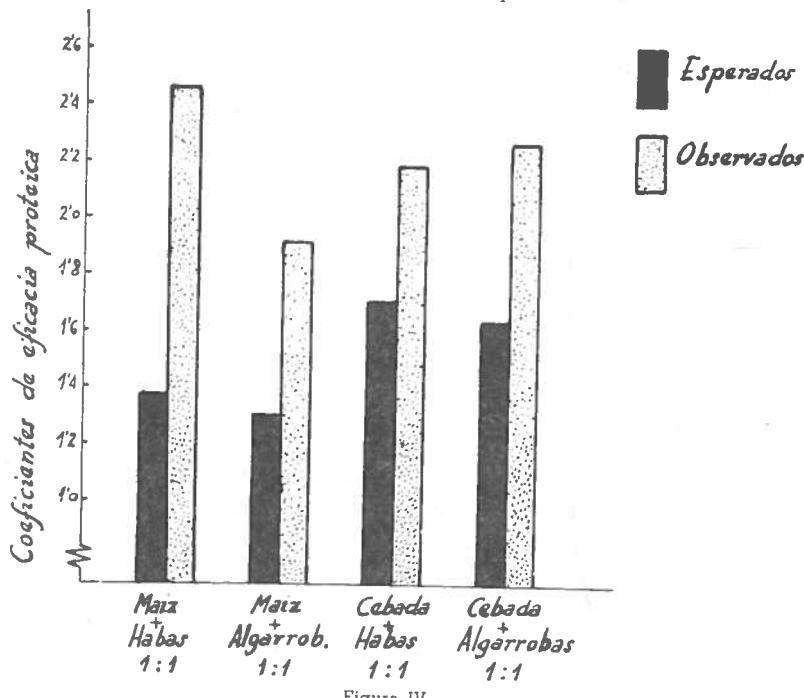


Figura IV
Coeficientes de eficacia proteica observados experimentalmente y esperados para las mezclas proteicas (leguminosa-cereal) que se especifican.

Las diferencias existentes entre las medias de ganancia en peso y entre los coeficientes de eficacia proteica (C. E. P.) tanto de las proteínas individuales (tabla XVIII) como de las mezclas proteicas (tabla XIX), han sido sometidas a análisis estadístico, para estudiar su grado de significación.

Los C. E. P. obtenidos han sido sometidos a estudio estadístico realizado según el método de análisis de la varianza que figura en el cuadro IV. El valor de $F = 9,925$ expresa la existencia de poblaciones

CUADRO IV

Análisis de la varianza de los C. E. P. de las proteínas de habas, algarrobas, maíz, cebada o cualquiera de las mezclas leguminosa-cereal.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio
Total	47	17,9784	0,3825
Medias de grupos	7	11,4081	1,6297
Individuos	40	6,5703	0,1642
		1,6297	
		$F = \frac{1,6297}{0,1642} = 9,925^{**}$	$(P < 0,01)$

distintas ($P < 0,01$). El "intervalo fiducial" hallado ($t_{0,05} \cdot s_x = 0,33$) permite inferir que una diferencia entre los C. E. P. es significativa al nivel del 5 por 100 si excede de $\pm 0,66$.

Según estos datos estadísticos, los grupos que recibieron una fuente única de proteína: habas, algarrobas y maíz, constituyen una población diferente estadísticamente de la integrada por aquellos que recibieron una mezcla de proteínas: habas-maíz, habas-cebada, algarrobas-cebada, algarrobas-maíz y el que recibió proteína de cebada únicamente. Dicho de otro modo, los coeficientes de eficacia proteica obtenidos con las mezclas de proteínas, leguminosa-cereal, fueron significativamente más elevados que los hallados para las proteínas administradas por separado excepto que el de la cebada.

Las ganancias en peso han sido sometidas igualmente al análisis de la varianza según figura en el cuadro V. El valor de $F = 12,82$, altamente significativo ($P < 0,01$), indica que, al igual que sucedía para los C. E. P. existen grupos que pertenecen a poblaciones distintas. Calculado el "intervalo fiducial" ($t_{0,05} \cdot s_x = 2,42$), se puede deducir que cualquier diferencia entre las ganancias en peso observadas es significativa al nivel del 5 por 100 si excede de $\pm 4,84$. Estos datos estadísticos nos llevan, pues, a la misma conclusión que en el caso de los C. E. P.: Los grupos que recibieron la mezcla de proteínas (leguminosa-cereal)

pertenecen a una población distinta que los que recibieron una fuente única de proteína excepto en el caso de la cebada. Solamente la mezcla proteica algarrobas-maíz ofrece alguna duda a este respecto, si bien como puede observarse está muy próxima a alcanzar también el "intervalo fiducial".

CUADRO V

Analisis de la varianza de las ganancias en peso observadas experimentalmente sobre las proteínas de habas, algarrobas, maíz, cebada o cualquiera de las mezclas leguminosa-cereal.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio
Total	47	1.140,62	
Medias de grupos	7	788,91	112,70
Individuos	40	351,71	8,79
		112,70	
$F = \frac{112,70}{8,79} = 12,82^{**}$			$P < 0,01$

Puesto que existieron diferencias relativamente notables en la ingestión total de alimentos y, por tanto, también en la ingestión de proteínas entre los distintos grupos, y teniendo en cuenta que las ganancias en peso son función, en parte, de la cantidad de proteína ingerida, aquéllas fueron ajustadas, por medio de un coeficiente de regresión dentro de los grupos a una ingestión común de 5,68 gramos de proteína para efectos comparativos. El método de cálculo de las medias de ganancia en peso ajustadas se realizó según se indica en el cuadro VI.

En la tabla XX figuran los valores de ganancias en peso ajustadas juntamente con las observadas experimentalmente sobre las proteínas simples y sobre las mezclas proteicas.

TABLA XX

Ganancias medias observadas experimentalmente y ganancias ajustadas a una ingestión común de proteína.

Fuente de proteína	Ganancia observada en 10 días gr.	Ganancia ajustada* gr.
Habas	5,66	9,54
Algarrobas	4,75	9,50
Maíz	8,00	9,43
Cebada	14,75	11,08
Maíz + Habas 1 : 1	16,16	13,09
Maíz + Algarrobas 1 : 1 ...	11,08	10,70
Cebada + Habas 1 : 1	12,91	12,08
Cebada + Algarrobas 1 : 1 ..	14,25	12,16

* Las medias de la columna anterior han sido ajustadas a una ingestión común de 5,68 gramos de proteína, por medio de un coeficiente de regresión dentro de grupos.

CUADRO VI

Cálculo de las medias de ganancia en peso ajustadas a una ingestión común de 5,68 gramos de proteína.

GRUPOS (fuentes de proteína)	Medias de proteína ingerida \bar{X}	Desviaciones desde la media total $x = \bar{X} - \bar{x}$	Producto $b \cdot x^*$	Ganancias medias observadas \bar{Y}	Ganancias medias ajustadas $\bar{Y} - b \cdot \bar{x}$
Habas	4,57	-1,111	-3,88	5,66	9,54
Algarrobas	4,32	-1,361	-4,75	4,75	9,50
Maíz	5,27	-0,411	-1,43	8,00	9,43
Cebada	6,74	1,059	3,67	14,75	11,08
Maíz + Habas	6,56	0,879	3,07	16,16	13,09
Maíz + Algarrobas ...	5,79	0,109	0,38	11,08	10,70
Cebada + Habas	5,92	0,239	0,83	12,91	12,08
Cebada + Algarrobas .	6,28	0,599	2,09	14,25	12,16

* b (coeficiente de regresión) = $S x \cdot y / S y^2 = 68,3384 / 19,5623 = 3,4933$, donde x = desviaciones de las ingestiones de proteína individuales a la ingestión media del total experimental (5,68), e y = desviaciones de las ganancias en peso individuales a la ganancia media total.

De la comparación de las ganancias en peso halladas experimentalmente con las ajustadas a una ingestión común de 5,63 gramos de proteínas se infiere, en primer lugar, la influencia que en los aumentos de peso ejerce la cantidad de proteína ingerida puesto que al ajustarlos a una ingestión común las diferencias entre los grupos disminuyen algo. De otro modo: las diferencias experimentales entre ganancias en peso son, en parte, debidas a diferencias en la cifra de ingestión de proteína. Ahora bien, el hecho de que, aunque en menor proporción, tales diferencias siguen, en líneas generales, existiendo para las ganancias ajustadas, permite inferir que estas diferencias son debidas, sin duda alguna, a diferentes calidades de las proteínas, en justa concordancia y correspondencia con los C. E. P. obtenidos.

Las diferencias entre las medias de ganancia en peso ajustadas han sido también sometidas a una prueba de significación, según el método del análisis de la covarianza que figura en el cuadro VII (este método fue empleado teniendo en cuenta la regresión de la ganancia en peso sobre la ingestión de proteína). El valor de $F = 2,38$ indica que existen grupos pertenecientes a poblaciones distintas ($P < 0,05$). Calculado el "intervalo fiducial" se ha obtenido que una diferencia entre las medias de ganancia en peso ajustadas es significativa al nivel del 0,05 si excede

CUADRO VII

Análisis de la covarianza y prueba de significado de las diferencias entre medias de ganancia en peso ajustadas.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de Cuadrados y productos			Errores de estimación		
		Sx^2	$Sx \cdot y$	Sy^2	Suma de cuadrados (1)	Grados de libertad	Cuadrado medio
Total	47	53,0490	227,9150	1140,6198	161,4298	46	
Raciones	7	53,4867	159,5766	788,9114			
Dentro de los errores (error)	40	19,5623	68,3384	351,7084	112,9784	39	2,8968
Para la prueba del significado de las medias ajustadas		48,4514	7	6,9216			
(1) $Sy^2 - \frac{(Sxy)^2}{Sx^2}$		$F = 6,9216 / 2,8968 = 2,3893 *$		$(P < 0,05)$			

de $\pm 2,80$ gramos ($t_{0,05} \cdot s_x = 1,40$). Este "intervalo fiducial" permite inferir, sobre los datos que figuran en la tabla XX, que si bien sólo el grupo maíz-habas aparece netamente como perteneciente a una población distinta de los que recibieron una fuente única de proteína: habas, algarrobas y maíz, excepto el que recibió cebada, sin embargo todos los demás grupos que recibieron la proteína mixta (leguminosa-cereal) se encuentran muy próximos a alcanzar tal "intervalo fiducial" de significación y, por consiguiente, a destacarse de manera estadísticamente significativa.

El efecto suplementario de las proteínas de leguminosas y cereales estudiados es probablemente debido a que las primeras son en general ricas en lisina, pero en ellas los aminoácidos sulfurados son muy limitados; por el contrario, en los cereales, especialmente el maíz, la lisina es el aminoácido limitante de su proteína, al mismo tiempo que contienen en relativa proporción más cantidad de aminoácidos sulfurados que las leguminosas. "Grosso modo" y teniendo en cuenta el contenido en tales aminoácidos de las proteínas en cuestión citado por numerosos autores, puede decirse que las proteínas de leguminosas contienen en la proporción 2,4 : 1 más lisina que las de cereales. Naturalmente, también es posible que las combinaciones de estas proteínas mejoren las cantidades relativas de otros aminoácidos, contribuyendo así a unos C. E. P. más elevados de tales mezclas de proteínas.

Relaciones suplementarias de índole similar a las obtenidas por nosotros han sido halladas por BRESSANI y col.¹⁸ entre la proteína de judías, Phaseolus vulgaris, cocidas y la del maíz. Estos autores alimentaron ratas al destete con dietas en las cuales 100, 80, 70, 60, 50, 40, 20 ó cero por 100 de la proteína total de la ración era aportada por maíz y el resto por judías cocidas, observando que las ganancias en peso y los coeficientes de eficacia proteica fueron mayores en los grupos en que del 40 al 60 por 100 de la proteína recibida procedía del maíz. Estos mismos autores, realizando estudios de ganancia en peso con ratas adultas depleccionadas de proteína, confirmaron la superioridad de las dietas que contenían 40 ó 60 por 100 de maíz sobre las que aportaban más o menos cantidad de proteína de maíz.

DE GROOT y SPANJERS.²⁰ utilizando en pruebas de alimentación con ratas una dieta base en que la fuente de proteína eran judías, al nivel del 10 por 100 hallaron una marcada mejora en la utilización de la pro-

teína sobre el valor esperado cuando proporciones de 20, 40, 60, 80 por 100 o el total de la proteína de leguminosas era reemplazada por proteína de trigo entre otras; indicando que tal mejora sería debida al aporte de lisina por parte de la leguminosa y de cistina y metionina por la del trigo y otras proteínas.

VII.—CONCLUSIONES

1.^a El nivel óptimo de proteína de semillas de habas en la dieta de las ratas experimentales para un máximo coeficiente de eficacia proteica ha sido hallado alrededor de 13 por 100.

2.^a Las proteínas de las semillas de habas y de algarrobas, como única fuente proteica, tienen un valor nutritivo medio. Los Coeficientes de Eficacia Proteica (Protein Efficiency Ratio) al nivel de 13,21 por 100 fueron $1,39 \pm 0,13$ y $1,52 \pm 0,11$ respectivamente. Los valores de Retención Proteica Neta (Net Protein Retention) resultaron ser 2,04 y 2,12 respectivamente.

3.^a Se ha observado un considerable efecto suplementario entre la proteína de semillas de habas y las de maíz y cebada. La mezcla habas-maíz demostró un valor nutritivo relativamente elevado, dando un coeficiente de eficacia proteica de $2,46 \pm 0,14$ y el C. E. P. de la proteína de la mezcla de habas-cebada resultó ser $2,18 \pm 0,08$. Estos valores hallados son superiores en 79 por 100 y 28 por 100, respectivamente, a los esperados, a partir de los coeficientes de las proteínas por separado si no hubiese habido efectos suplementarios.

4.^a Igualmente se ha observado un notable efecto suplementario entre la proteína de semillas de algarrobas y las de maíz y cebada. La mezcla algarrobas-maíz presentó un coeficiente de eficacia proteica de $1,91 \pm 0,10$ y la de algarrobas-cebada de $2,26 \pm 0,07$. Ambos valores exceden en 46 por 100 y 38 por 100, respectivamente, a los esperados, si no hubiese habido efectos de suplementación.

VIII.—RESUMEN

El valor nutritivo de las proteínas de semillas de habas (*Vicia faba*, L.) y de algarrobas (*Ervum monanthos*, L.) y sus efectos suplementarios con las proteínas de maíz y de cebada han sido estudiados biológicamente por el método del coeficiente de eficacia proteica (C. E. P.) (aumento de peso en gramos por gramo de proteína ingerida) y en el primer caso, además, por el método de Net Protein Retention (Retención Proteica Neta (R. P. N.), de BENDER y DOELL.

Las experiencias han sido llevadas a cabo sobre un total de ciento seis ratas albinas-Wistar, al destete, todas ellas machos y distribuidas en grupos de seis animales. Todas las pruebas tuvieron un período de duración de diez días.

En la primera experiencia se ha estudiado el efecto sobre el C. E. P. de la proteína de semillas de habas a niveles en la dieta de 5,07, 7,12, 9,15, 11,18, 13,21, 15,25, 17,28 y 19,31 por 100. El mayor C. E. P. ($1,47 \pm 0,08$) fue obtenido con el nivel de 13,21 por 100. En líneas generales, el C. E. P. fue aumentando progresivamente desde $0,42 \pm 0,13$ para el nivel del 5,07 por 100 hasta un máximo al nivel del 13,21 por 100, disminuyendo a partir de aquí a medida que aumentaba el nivel de proteína en la dieta. Sin embargo, la ganancia en peso durante diez días aumentó gradualmente desde 1,67 gramos al nivel de 5,07 por 100 hasta 25,75 gramos al 19,32 por 100.

En la segunda experiencia se ha determinado el valor nutritivo de las proteínas de semillas de habas y de algarrobas por el método del coeficiente de eficacia proteica y el de retención proteica neta. En ambos casos el nivel de proteína en la dieta fue de 13,21 por 100. Expresado como C. E. P. el valor nutritivo resultó ser para la proteína de habas = $1,39 \pm 0,13$ y para la de algarrobas = $1,52 \pm 0,11$. La diferencia entre ambas no es estadísticamente significativa. Según el método de R. P. N. los valores encontrados fueron: 2,04 para las habas y 2,12 para las algarrobas. El estudio de la composición en aminoácidos de las proteínas de ambas leguminosas indica que el bajo valor nutritivo hallado radica en su deficiencia en aminoácidos sulfurados, concretamente en metionina.

En la tercera experiencia se han determinado los efectos de suplementación entre las proteínas de habas y las de maíz y cebada, y entre estos mismos cereales y las algarrobas. La mezcla de proteína de leguminosas con proteína de cereales en la dieta fue en todos los casos

en la proporción de 1 : 1. El nivel de proteína en la dieta osciló entre 7,0 y 7,21 por 100. Los coeficientes de eficacia proteica encontrados para cada una de las mezclas de proteínas (leguminosa-cereales) ensayadas fueron los siguientes: habas-maíz = $2,46 \pm 0,14$; habas-cebada = $2,18 \pm 0,08$; algarrobas-maíz = $1,91 \pm 0,10$ y algarrobas-cebada = $2,26 \pm 0,07$, en contraste con los siguientes coeficientes hallados para las proteínas por separado: habas = $1,20 \pm 0,23$; algarrobas = $1,09 \pm 0,27$; maíz = $1,51 \pm 0,19$, y cebada = $2,18 \pm 0,09$. Las diferencias entre los C. E. P. de las mezclas de proteínas (leguminosa-cereal) y los de las proteínas por separado, excepto la cebada, son estadísticamente significativas. En todos los casos, los valores obtenidos experimentalmente para las mezclas de proteínas excedieron ampliamente a los esperados teóricamente, a partir de los valores individuales, si no hubiera habido efectos de suplementación entre las distintas proteínas. Las relaciones suplementarias observadas entre las proteínas de las leguminosas y las de los cereales serían debidas esencialmente a que la deficiencia en lisina por parte de las proteínas de cereales serían compensadas por el mayor aporte de este aminoácido en las leguminosas.

RESUME

On a étudié biologiquement la valeur nutritive des protéines de graines de fèves (*Vicia faba* L.) et celle de lenteilles d'Auvergne (*Ervum monanthos* L.) et les effets supplémentaires de ces protéines sur les protéines de maïs et d'orge par la méthode du coefficient d'efficacité protéique (C. E. P.) (gains de poids en grammes par gramme de protéine ingérée) et aussi, dans le premier cas, par la méthode de retention protéique nette (R. P. N.) de BENDER et DOELL.

Les expériences ont été réalisées avec 106 rats mâles albinos-Wistar, au moment du sevrage, distribués en groupes de 6. Tous les expériences eurent une durée de 10 jours.

Dans la première expérience on a étudié le niveau optime des protéines de fèves dans la diète pour obtenir le maximum d'efficacité protéique. Pour ceci cette protéine fut incluse dans la ration aux niveaux de 5,07 %, 7,12 %, 9,15 %, 11,18 %, 13,21 %, 15,25 %, 17,28 % et 19,31 %. En général le C. E. P. augmenta progressivement de $0,42 \pm 0,13$ pour le niveau de 5,07 %, jusqu'à un maximum de $1,47 \pm 0,08$ pour

le niveau de 13,21 %, et diminua a partir de ce niveau à mesure que le niveau de protéine dans la diète augmentait. Cependant, le gain en poids pendant 10 jours augmenta graduellement de 1,67 grammes au niveau de 5,07 jusqu'à 25,75 grammes au niveau de 19,32 %.

Dans la deuxième expérience on a déterminé la valeur nutritive des protéines de grains de fèves et celle de grains de lentilles d'Auvergne en utilisant la méthode du coefficient d'efficacité protéique et aussi celle de la retention protéique nette. Dans tous les cas le niveau de protéine dans la diète fut de 13,21 %. Le C. E. P. pour les protéines de fèves fut $1,39 \pm 0,13$ et pour celles de lenteilles d'Auvergne $1,52 \pm 0,11$. La différence n'est pas statistiquement significative. D'après la méthode de R. P. N. on a obtenu les indices 2,04 et 2,12 respectivement. L'étude de la composition aminoacidique des protéines de tous les deux légumineuses nous indique que la basse valeur nutritive trouvée est due à leur déficit en aminoacides sulfurés, spécialement en méthionine.

Dans la troisième expérience on a déterminé les effets de supplémentation entre les protéines de fèves et celles de maïs et d'orge, et entre celles de ces mêmes céréales et celles de lenteilles d'Auvergne. Le mélange de protéines de légumineuses avec des protéines de céréales dans la diète fut dans tous les cas dans la proportion de 1 : 1. Le niveau de protéines dans la diète oscilla entre 7,0 % et 7,21 %. Les coefficients d'efficacité protéique trouvés pour chacun des mélanges de protéines (légumineuses-céréales) essayés furent: fèves-maïs, $2,46 \pm 0,14$; fèves-orge, $2,18 \pm 0,08$; lenteilles d'Auvergne-maïs, $1,91 \pm 0,10$; lenteilles d'Auvergne-orge, $2,26 \pm 0,07$; bien différents des coefficients suivants trouvés pour les protéines par séparé: fèves, $1,20 \pm 0,23$; lenteilles d'Auvergne, $1,09 \pm 0,27$; maïs, $1,51 \pm 0,19$; orge, $2,18 \pm 0,09$. Les différences entre les coefficients d'efficacité protéique (C. E. P.) des mélanges de protéines (légumineuses-céréale) et ceux des protéines par séparé, excepté l'orge, sont statistiquement significatives. Dans tous les cas les valeurs obtenues expérimentalement pour les mélanges de protéines surpassèrent largement ceux qu'on attendait théoriquement, à partir des valeurs individuelles, s'il n'y avait pas eu d'effets de supplémentation entre les différentes protéines.

Les relations supplémentaires observées entre les protéines des légumineuses et celles de céréales seraient dues, probablement, à que l'insuffisance en lysine des protéines de céréales serait compensée par un plus grand apport de cet aminoacide dans les légumineuses.

SUMMARY

The nutritive value of horse bean (*Vicia faba* L.) and one-flowered tare (*Ervum monanthos* L.) seed proteins and their supplementary relations to corn and barley proteins have been studied biologically by the Protein Efficiency Ratio method (P. E. R.) (gain in weight in grams per gram protein intake) and, in the first case, also by the Net Protein Retention method of BENDER and DOELL.

The experiments have been carried out with 106 weaning albino-Wistar rats distributed into groups of six. Only male rats were used. All the tests lasted 10 days.

In the first test, the protein intake level of horse bean proteins for maximum efficiency was determined by using the following levels: 5.07 %, 7.12 %, 9.15 %, 11.18 %, 13.21 %, 15.25 %, 17.28%, and 19.31 %. The protein efficiency ratios progressively increased from 0.42 ± 0.13 for 5.07 % to a maximum of 1.47 ± 0.08 for 13.21 %, decreasing from this figure as the protein level in the diet increased. However, the gain in weight during 10 days gradually increased from 1.67 grams at 5.07 % to 25.75 grams at 19.32 % level.

In the second test the nutritive value of horse bean and of one-flowered tare proteins have been determined by both the protein efficiency ratio and the net protein retention methods. In all cases the protein level in the diet was 13.21 %. The P. E. R. was 1.339 ± 0.13 for horse bean proteins and 1.52 ± 0.11 for one-flowered tare proteins. The difference was not statistically significative. By the N. P. R. method the indices were found to be 2.04 and 2.12 respectively. The study of the composition in aminoacids of proteins in both leguminous seeds indicates that the low nutritive value found is due to their deficiency in sulfurated aminoacids, concretely in methionine.

In the third test the supplementary effects among the horse bean proteins and corn and barley and between these same cereal proteins and one-flowered tare proteins have been studied by the protein efficiency ratio method. The mixture of leguminous proteins with cereal proteins in the diet was in every case in the ratio 1 : 1. The protein level in the diet ranged between 7.0 % and 7.21 %. The protein efficiency ratios of the different protein blends (leguminous protein and cereal protein) were found to be: horse bean + corn, 2.46 ± 0.14 ; horse bean + barley, 2.18 ± 0.08 ; one-flowered tare + corn, 1.91 ± 0.10 and one-flowered

tare + barley, 2.26 ± 0.07 , differing from the ones found for proteins when tested individually, which were: horse bean, 1.20 ± 0.23 ; one-flowered tare, 1.09 ± 0.27 ; corn, 1.51 ± 0.19 and barley, 2.18 ± 0.09 . The differences between the protein efficiency ratios of protein mixtures (leguminous + cereal) and those of either source, except barley, when studied separately, were statistically significative. In every case the values experimentally obtained for the protein mixtures exceeded those theoretically expected from individual values, if no supplementary effect between the different proteins would have happened.

The supplementary relations observed between the leguminous proteins and the cereal proteins are probably due to the correction of the lysine deficiency of cereal proteins by a larger contribution of this aminoacids by the leguminous proteins.

IX. BIBLIOGRAFIA

- 1) ABRAMS, J. T. (1961).—*Animal nutrition and veterinary dietetics*. 4 th ed. W. Green and Son, Limited, Publishers. Edinburg.
- 2) ADOLPH, H. W., SHAMMAS, E. I., y HALABY, S. H. (1955).—*The Nutritive value of legume proteins and legume wheat mixed proteins in Near East diets*. Food Research. vol. 20, n.º 1, pág. 31.
- 3) ADRIAN, J. y RERAT, A. (1958).—*Méthodes d'évaluation de la valeur nutritive des protéines*. Cent. Nat. de la Rech. Sci. París.
- 4) ANON. (1951). Nutr. Rev. vol. 9, pág. 28. Ref. Abrams, J. T.¹
- 5) Anuario estadístico de la producción agrícola. Campaña 1962-63. Ministerio de Agricultura. Madrid.
- 6) Association of Official Agricultural Chemists. (1950). Official Methods of Analysis. Ed. 7. Washington.
- 7) BALBOA, J. y ZORITA, E. (1964). Datos no publicados.
- 8) BANERJEE, S. (1960).—*Biological value and essential aminoacid composition of the proteins of some pulses*. Proc. Symposium on Proteins, Mysore, 355. Nutr. Abst. and. Rev., vol. 32, n.º 3, pág. 728.
- 9) BARNES, R. H. y BOSSHARDT, D. K. (1946).—*The evaluation of protein quality in the normal animal*. Ann. N. Y. Acad. Sci., vol. 47, pág. 273.
- 10) BENDER, A. E. y MILLER, D. S. (1953).—*Biochem. J.*, vol 53, vii.

- 11) BENDER, A. E. y DOELL, B. H. (1957).—*Biological evaluation of proteins: a new aspect*. Brit. J. Nutr., vol. 11, pág. 140.
- 12) BEST, C. H. y TAYLOR, N. B. (1943).—*The physiological basis of medical practice*. 3. th. ed. The Williams and Wilkins Company. Baltimore.
- 13) BLOCK, R. J. y MICTHELL, H. H. (1946).—*The correlation of the aminoacid composition of proteins with their nutritive value*. Nutr. Abst. and Rev. vol. 16, pág. 249.
- 14) BORCHERS, R., ACKERSON, C. W. y KIMMETT, L. (1947).—*Trypsin inhibitor. IV. Ocurrence in seeds of the Leguminosae and other seeds*. Arch. Biochem., vol. 13, pág. 291, Chem. Abst., vol. 41, 6291.
- 15) BORCHERS, R. y ACKERSON, C. W. (1950).—*The nutritive value of legume seeds. X.—Effect of autoclaving and the trypsin inhibitor test for 17 species*. J. Nutrition, vol. 41, pág. 339.
- 16) BRESSANI, R., MARCUCCI, E., ROBLES, C. E. y SCRIMSAW, N. S. (1954).—*Nutritive value of Central American beans. I.—Variation in the nitrogen, tryptophane and niacin content of ten guatemalan black beans (Phaseolus vulgaris L.), and the retention of the niacin after cooking*. Food Res., vol. 19, pág. 263.
- 17) BRESSANI, R., ELIAS, L. G. y NAVARRETE, D. A. (1961).—*Nutritive value of Central American beans. 4. The essential aminoacid content of samples of black beans, red beans, rice beans and cowpeas of Guatemala*. J. Food. Sci., vol. 26, pág. 525.
- 18) BRESSANI, R., VALIENTE, A. T. y TEJADA, C. E. (1962).—*All vegetable protein mixtures for human feeding. 6.—The value of combinations of lime-treated corn and cooked black beans*. J. Food Sci., vol. 27, pág. 394.
- 19) BRESSANI, R., ELIAS, L. G. y VALIENTE, A. T. (1963).—*Effect of cooking and of aminoacid supplementation on the nutritive value of black beans (Phaseolus vulgaris L.)* Brit. J. Nutr., vol. 17, pág. 69.
- 20) BRISSON, G. J., NIKOLAICKZUCK, N. y MAW, W. A. (1950).—*Feeding value of horsebean (Vicia faba) for chicks*. Sci. Agr. vol. 30, 384-91. Chem. Abst., vol. 44, 10833.
- 21) CAMPBELL, R. M. y KOSTERLITZ, H. W. (1948).—*The assay of the nutritive value of a protein by its effect on liver citoplasm*. J. Physiol., vol. 107, pág. 383.
- 22) CATRON, D. V. y HAYS, V. W. (1958).—*La harina de soja en la moderna nutrición animal*. Conferencia pronunciada en la Id. Italiana de Piensos. Roma. Italia.
- 23) CHAO-YU CHEM y TSU-CHAI WANG (1943).—*Experiments on the supplementary relationship between the proteins of horse bean and yellow maize*. Nutr. Bull. (China), núm. 3, 29-32. Chem. Abst., vol. 40, 1.911.
- 24) COLOBRADO, V. y SANAHUJA, J. C. (1957).—*Determinación de aminoácidos en las proteínas de diversas legumbres comestibles de la Argentina, su contenido en aminoácidos azufrados y triptófano*. Anales de Bromatología, tomo IX, núm. 1, 61.
- 25) CHAMPTON, E. W. (1961).—*Nutrición Animal Aplicada*. Traducido de la edición norteamericana. Editorial Acribia. Zaragoza.
- 26) DE CROOT, A. P. y SPANJERS, M. (1961).—*De voedingswaarde van peulvruchteneiwit. 3.—Aanvullende waarde van verschillende voedingsmiddelen voor bruine bone*. Voeding, vol. 22, 233-242. Nutr. Abst. and Rev., vol. 32, núm. 1, pág. 169.
- 27) DE VUYST, A. y ARNOULD, R. (1960).—*Principios básicos de la nutrición nitrogenada de los animales en crecimiento*. Zootecnia, vol. IX, núm. 4, pág. 151.
- 28) ESH, G. C. y SOM, J. M. (1952).—*Nutritional survey on available food materials. III.—Nutritive value of pulses*. Indian J. Physiol. and Allied Sci., vol. 6, pág. 61. Chem. Abst., vol. 46, 10. 332.
- 29) FERNELL, W. R. y ROSEN, G. D. (1956).—*Microbiological evaluation of protein quality with Tetrahymena pyriformis. W. 1. Characteristics of growth of the organism and determination of relative nutritive values of intact proteins*. Brit. J. Nutrition, vol. 10, pág. 143. Nutr., abst. and Rev., vol. 26, pág. 884.
- 30) FOLIN, O. (1905).—*A. Theory of protein metabolism*. Am. J. Physiol., vol. 13, pág. 117.
- 31) FOURY, A. (1954).—*Les légumineuses fourragères au Maroc*. Service de la Recherche Agronomique. Rabat. 441. Ref. Sanz Arias (62).
- 32) FRUTON, J. S. y SIMMONDS, S. (1961).—*Bioquímica general*. Traducción de la segunda ed. norteamericana. Ed'c. Omega, S. A. Barcelona.
- 33) GUTHNECK, B. T., BENNETT, B. A. y SCHWEIGERT, B. S. (1953).—*Utilization of aminoacids from foods by the rat. II. Lysine*. J. Nutrition, vol. 49, pág. 277.
- 34) HALEVY, S. y GROSSOWICZ, N. (1953).—*A microbiological approach to nutritional evaluation of proteins*. Proc. Soc. exp. Biol. Med. N. Y., vol. 82, pág. 567. Chem. Abst., vol. 47, 7012.
- 35) HEGSTED, D. M. y WORCESTER, J. (1947).—*A study of the relation between protein efficiency and gain in weight on diets of constant protein content*. J. Nutrition, vol. 33, pág. 685. Nutr. Abst. and Rev., vol. 17, pág. 686.

- 36) HOAGLAND, R., ELLIS, N. R., HANKINS, O. G. y SNIDER, G. G. (1945).—U. S. Dept. Agric. Tech. Bull., 906. Ref. Adrian, y Rerat. (3)
- 37) HORN, M. J., BLUM, A E., WOMACK, M. y GERSDORFF, C. E. F. (1952).—*Nutritional evaluation of food proteins by measuring availability of aminoacids to microorganisms. I. Cottonseed proteins.* J. Nutrition, vol. 48, pág. 231.
- 38) INAMDAR, A. N. y SOHONIE, K. (1961).—*Studies in nutritive value of double bean.* 1.—*Digestibility of double bean flour "in vitro".*—2.—*Effect of autoclaving, germination and solvent extraction on nutritive value.* 3.—*The effect of feeding a double bean, diet on the composition and certain enzymes of the liver of albino rats.* Ann Biochem. Esp. Med. vol. 21, pág. 191. Nutr. Abst. and Rev., vol. 32, pág. 510.
- 39) INAMDAR, A. N. y SOHONIE, K. (1961).—*Studies in nutritive value of double bean (V. faba, Moench).* Proc. Symposium on Proteins, Mysore, pág. 375-380. Nutr. Abst. and. Rev., vol. 32, pág. 857.
- 40) Instituto de Biología Animal. Madrid. Ref. Revuelta, L. (51).
- 41) JAFFE, W. G. (1949).—*Limiting essential aminoacids of some legume seeds.* Proc. Soc. Exp. Biol. Med., vol. 71, 398. Nutr. Abst. and Rev., vol. 19, pág. 639.
- 42) JONES, D. B. y DIVINE, J. P. (1944).—*The protein nutritional value of soybean, peanut and cottonseed flours and their value as supplements to wheat flour.* J. Nutrition, vol. 28, pág. 41. Ref. Maynard y Loosli. (44).
- 43) MAHON, J. H. y COMMON, R. H. (1950).—*The aminoacid composition of the horse bean, Vicia faba, as related to its nutritive value for chicks.* Sci. Agri. vol. 30, pág. 43. Chem. Abst., vol. 44, 3.103.
- 44) MAYNARD, L. A. y LOOSLI, J. K. (1962).—*Animal Nutrition*, 5 th ed. Mc. Graw-Hill Book Company, INC. New York.
- 45) MC COLLUM, E. V., CRENT KEILER, E. y DAY, H. C. (1938). *The newer Knowledge of nutrition*, 5 th ed., New York. Ref., Adrian y Rerat. (3).
- 46) MELA, P. M.—*El suelo y los cultivos de secano.* Ediciones Agrociencia. Zaragoza.
- 47) MILLER, D. S. y BENDER, A. E. (1955).—*Brit. J. Nutr.* vol. 9, pág. 382.
- 48) MITCHELL, H. H. (1924).—*A method of determinig the biological value of protein.* J. Biol. Chem., vol. 58, pág. 873.
- 49) MITCHELL, H. H. y KICK, C. H. (1927).—*The supplementary relation between the proteins of corn and of tankage determined by metabolism experiments on swine.* J. Agr. Research, vol. 35, pág. 857. Ref. Maynard y Loosli (44).
- 50) MITCHELL, H. H. (1944).—*Determination of the nutritive value of the proteins of foods products.* Ind. Eng. Chem. Anal. Ed., vol. 16, pág. 696.
- 51) MORRISON, F. B. (1959).—*Feeds and Feeding.* 22. th ed. Clinton, Iowa. The Morrison Publishing Company.
- 52) Nutrient Requirements of Laboratory Animals. National Research Council. Publication 990. 1962. Washington.
- 53) OSBORNE, T. B. y MENDEL, L. B. (1916).—*J. Biol. Chem.* Vol. 26, pág. 1.
- 54) OSBORNE, T. B., MENDELL, L. B. y FERRY, E. L. (1919).—*A method of expressing numerically the growth-promoting value of proteins.* J. Biol. Chem., vol. 37, pág. 223.
- 55) OSER, B. L. (1951).—*Method for integrating essential aminoacid content in the nutritional evaluation of protein.* J. Amer. Diet. Ass., vol. 27, pág. 396.
- 56) PUJOL, A. y VARELA, G. (1958).—*Sobre la digestibilidad y coeficiente de eficacia en crecimiento de un grupo de leguminosas españolas.* Anales de Bromatología, tomo X, núm. 1, pág. 41.
- 57) REVUELTA GONZALEZ, L. (1963).—*Bromatología zootécnica y Alimentación Animal.* 2.ª ed. Edit. Salvat, Barcelona.
- 58) ROBSCHET-Robbins, F. S. y WHIPPLE, G. H. (1949).—*Dietary effects on anemia plus hipoproteinemia in dogs.* 1.—*Some proteins further the production of hemoglobin and others plasma protein production.* 2.—*The findings with milk products, wheat and peanut flours as compared with liver.* J. Exp. Med., vol. 89, pág. 339. Nutr. Abst. and Rev., vol. 19, pág. 121.
- 59) ROCKLAND, L. B. y DUNN, M. S. (1949).—*Determination of the biological value of proteins with Tetrahymena gelii*, Food Tech., vol. 3, pág. 289. Chem. Abst. vol. 44, 10192.
- 60) RONDA LAIN, E., MORALES, J. F. y OTERO CORTES, J. (1963). *Proporción de aminoácidos contenidos en las leguminosas en grano cultivadas en España.* Revista de Nutrición Animal, vol. 1, pág. 24.
- 61) RUSSELL, W. C., TAYLOR, M. W., MEHRHOF, T. G. y HIRSCH, R. R. (1946).—*The Nutritive value of the protein of varieties of legumes and the effect of methionine supplementation.* J. Nutrition, vol. 32, pág. 313. Chem Abst., vol. 41, pág. 2.468.
- 62) SANZ ARIAS, R. (1961).—*Las semillas de Vicia faba L. en la alimentación de los pollos de carne.* Anales de la Facultad de Veterinaria de León. Año VII, núm. 7, pág. 89.

63) SCHILLER, K. (1960).—*Ein Stoffwechselkäfig für Ratten*. Zeitschrift für Tierphysiologie, Tierernährung und Futtermittelkunde, 15, 305-308.

64) SHERWOOD, F. W. y WELDON, V. (1953).—*Comparison of four feeding methods for assessing the relative growth promoting properties of proteins*. J. Nutrition vol. 49, pág. 153.

65) SIBBALD, I. R., BOWLAND, J. P., ROBBLEE, A. R. y BERG, R. T. (1957).—*Apparent digestible energy and nitrogen in the food of the weanling rat. Influence on food consumption, nitrogen retention and carcass composition*. J. Nutrition, vol. 61, pág. 71.

66) SNEDECOR, G. W. (1948).—*Métodos de estadística*. Traducido de la 4.^a edición inglesa. Acme. Agency, Soc. Resp. Ltda. Buenos Aires.

67) SOHONIE, K. y AMBE, K. S. (1955).—*Crystalline trypsin inhibitors from the Indian field bean and the double bean*. Nature, vol. 175, pág. 508. Chem. Abst., vol. 49, pág. 12559.

68) STAHLIN, A. (1957).—*Die Beurteilung der Futtermittel*. Methodenbuch, Band. XII. Neumann Verlag-Radebeul und Berlin.

69) TASKAR, A. D., PARTHASARATHY, N. R. y SHANCHA, C. S. (1959).—*The influence of food intake and duration of feeding on the evaluation of protein efficiency ratio*. Indian J. Med. Res., vol. 47, pág. 696. Nutr. Abst. and Rev., vol. 30, pág. 4.100.