

Universidad del Valle de Guatemala
Facultad de Ciencias y Humanidades

EVALUACION QUIMICA Y NUTRICIONAL
DE LA ALMENDRA DE SEMILLA DE HULE

Hevea brasiliensis

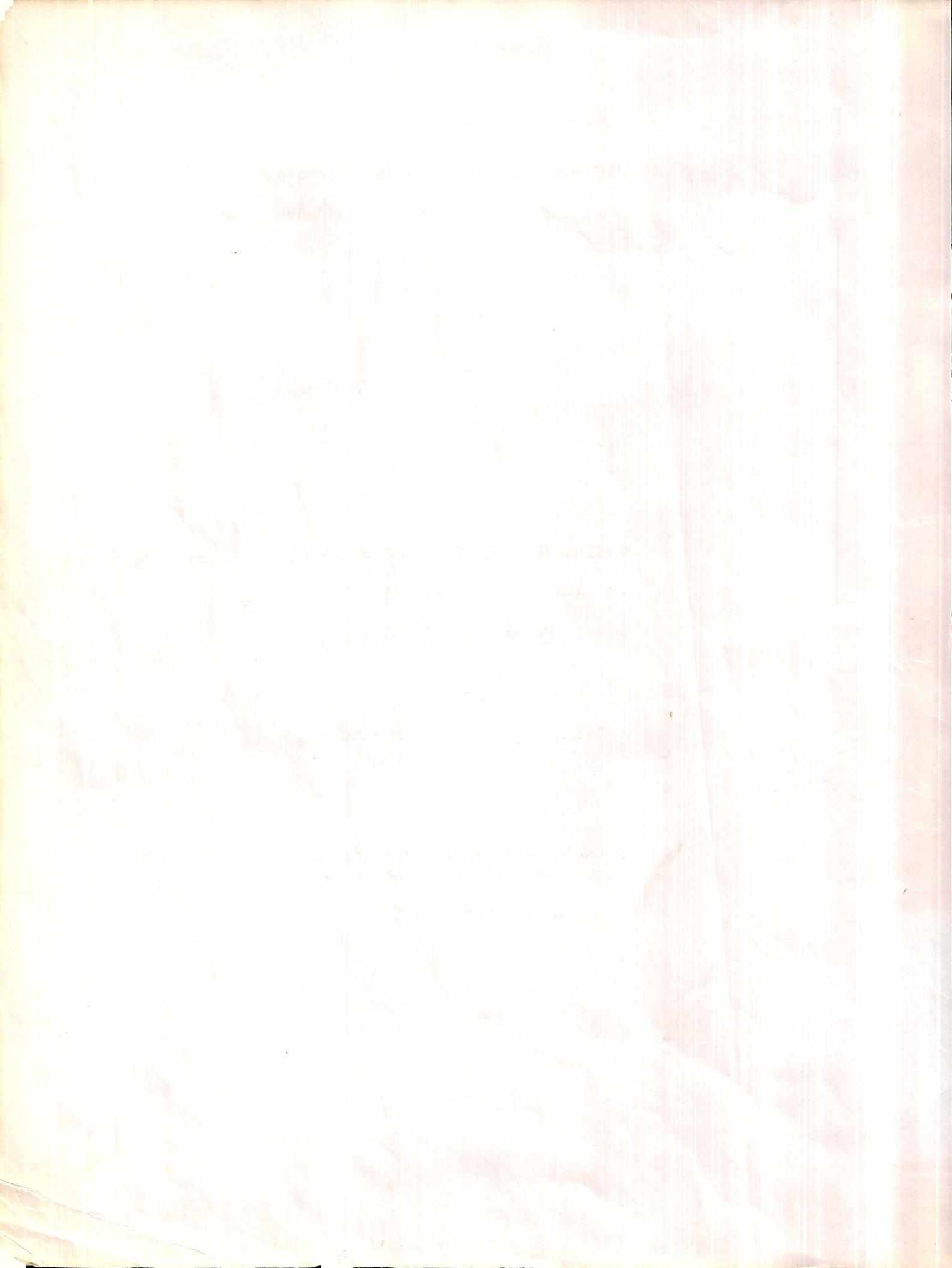
Celia Margarita Selle Sánchez

Trabajo de investigación presentado
para optar al grado académico de

Licenciada en Química

Guatemala

1982





Agradezco su valiosa colaboración a las Instituciones y
a las personas que me ayudaron a realizar este trabajo:

Ing. Elvira G. de Mejía y Dr. Sergio Aragón, de la
Universidad del Valle de Guatemala;

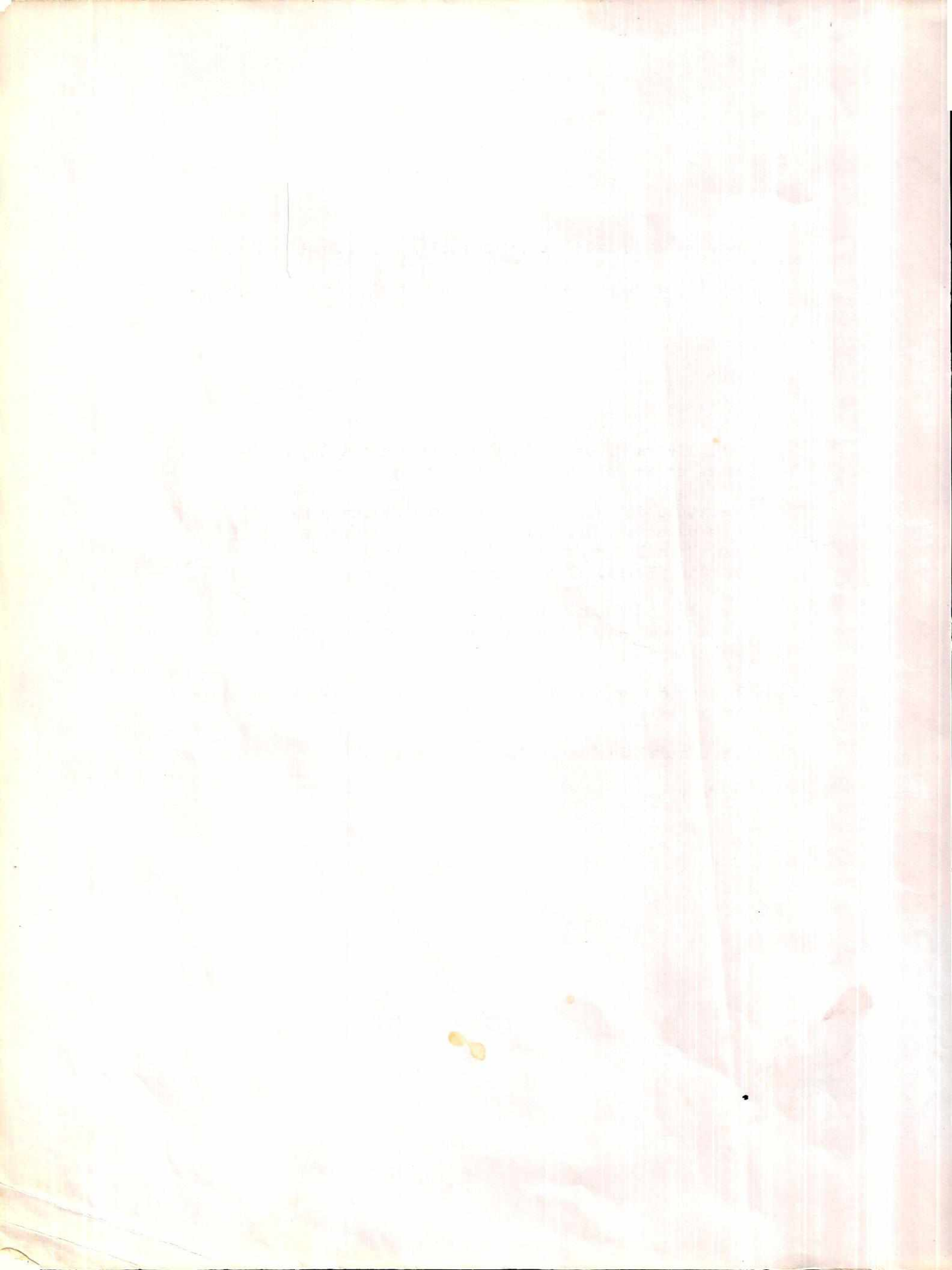
Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá,
y en especial, Dr. Luis Elías, Dr. Ricardo Bressani,
Lic. Rafael Flores, Lic. Leonardo Lareo, Sr. Catalino
Estrada, Srita. Elma Herrera y Sr. Víctor Chajón;

Ing. Julio Tejada y Sr. Oscar de León, del Programa
Universidad del Valle de Guatemala-Gremial de Huleros
de Guatemala;

Instituto Centroamericano de Investigación y Tecnología
Industrial;

Universidad de las Naciones Unidas;

mi familia.



RESUMEN

El objetivo principal de este estudio, fue determinar el efecto de los tratamientos de remojo, cocción, remojo-cocción y cocción-extracción de aceite, en el contenido de cianuro enlazado y libre y en la calidad alimenticia de la almendra de semilla de hule Hevea brasiliensis. Además, se determinó la composición química proximal de la almendra y su contenido de fósforo, hierro, calcio y aminoácidos.

Las determinaciones hechas indican lo siguiente:

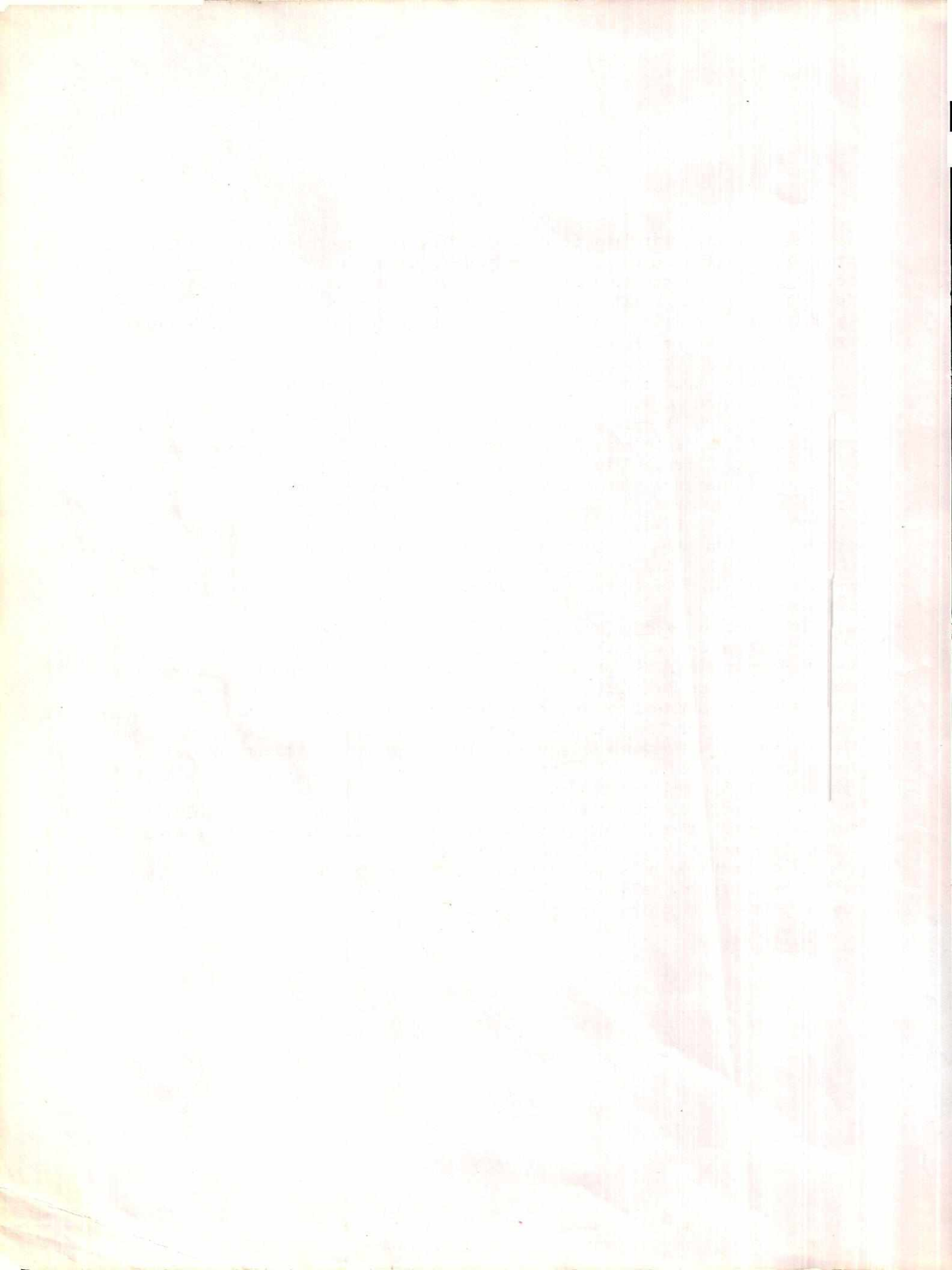
La almendra de hule fresca contiene entre 130 y 230 mg. de cianuro total por cada 100 g. de tejido; de esta cantidad, el 94% es cianuro enlazado y el 6% es cianuro libre. Este contenido de cianuro total es mayor que el informado para raíz de yuca y semejante al informado para algunas variedades de frijol lima.

El tratamiento combinado de 20 horas de remojo y 1 hora de cocción, es más efectivo para disminuir el contenido de cianuro enlazado y libre en la almendra fraccionada, que los tratamientos de 20 horas de remojo, 1 hora de cocción o 30 minutos de cocción combinado con 4 horas de extracción de aceite con hexano.

La almendra de hule cruda es de mala calidad alimenticia, causa deterioro y muerte de ratas alimentadas con dietas que la contienen a un nivel de 10% de proteína. Su calidad alimenticia mejora al someterla a tratamientos de 30 minutos de cocción, 20 horas de remojo o 30 minutos de cocción combinados con extracción de aceite con hexano; la almendra así tratada, no causa muerte y permite cierto grado de crecimiento, de ratas alimentadas con dietas que la contienen a un nivel de 10% de proteína. La calidad alimenticia no mejora al someter la almendra a tratamiento combinado de 20 horas de remojo y 30 minutos de cocción.

La almendra de hule tiene un contenido de lípidos alto, un valor calórico alto y un contenido de proteína bajo, en comparación con almendras de otras oleaginosas, como maní, soya o algodón.

La almendra de hule es una buena fuente energética y una buena fuente de fósforo, hierro, valina, isoleucina, fenilalanina y tirosina. Es una fuente pobre de treonina, leucina y lisina.



INDICE

	Página
I. INTRODUCCION	1
II. ANTECEDENTES	3
A. <u>Hevea brasiliensis</u>	3
1. Taxonomía	3
2. Descripción	3
3. Distribución geográfica	4
4. Utilización	4
B. Composición química y valor nutritivo de la semilla de <u>Hevea brasiliensis</u>	6
C. Glicósidos cianogénéticos	10
1. Descripción	10
2. Distribución en la naturaleza	14
3. Toxicidad	16
4. Mecanismos de destoxificación de cianuro en el organismo	19
5. Eliminación de la toxicidad de los alimentos	22
6. Glicósidos cianogénéticos en <u>Hevea brasiliensis</u>	25
D. <u>Hevea brasiliensis</u> en Guatemala	27
III. OBJETIVOS	29
IV. IMPORTANCIA Y JUSTIFICACION	33
V. METODOS Y MATERIALES	35
VI. RESULTADOS	45
A. Composición química de la almendra de semilla de hule	45
B. Efecto del remojo en el contenido de cianuro en la almendra de hule	48
C. Efecto de la cocción en el contenido de cianuro en la almendra de hule	48

D.	Efecto del remojo y la cocción en el contenido de cianuro en la almendra de hule	49
E.	Efecto de la cocción y la extracción del aceite con hexano en el contenido de cianuro en la almendra de hule	56
F.	Composición química de las distintas harinas de almendra de hule preparadas para la evaluación biológica de su calidad alimenticia	56
G.	Valor calórico de la harina de almendra de hule cruda	57
H.	Contenido de aminoácidos en la harina de almendra de hule	61
I.	Composición química y valor calórico de las dietas utilizadas para evaluar biológicamente la calidad alimenticia de las distintas harinas de almendra de hule	61
J.	Evaluación biológica del valor alimenticio de las distintas harinas de almendra de hule	62
1.	Valores de índice de eficiencia protéica, PER, obtenidos para distintas harinas de almendra de hule	67
2.	Valores de razón proteínica neta, NPR, obtenidos para distintas harinas de almendra de hule	69
3.	Observaciones acerca de crecimiento, ingesta de alimento y mortalidad en los animales utilizados en la evaluación biológica, a lo largo de ocho semanas de experimentación	69
VII.	DISCUSION	81
VIII.	CONCLUSIONES	113
IX.	SUGERENCIAS PARA ESTUDIO FUTURO	117
X.	BIBLIOGRAFIA	119
APENDICES		
A	- Método de Cooke para la determinación de cianuro total y libre; utilización de este método en el análisis de almendra y harinas de almendra de semilla de hule <u>Hevea brasiliensis</u>	125
B	- Curvas de calibración utilizadas en la determinación de calcio, hierro, fósforo y valor calórico en la almendra y harinas de almendra de semilla de hule <u>Hevea brasiliensis</u>	135

C - Método y procedimiento seguido para la determinación del efecto del remojo, la cocción y la extracción del aceite con hexano, en el contenido de cianuro en la almendra de semilla de hule <u>Hevea brasiliensis</u>	141
D - Preparación de distintas harinas de almendra de semilla de hule <u>Hevea brasiliensis</u>	143
E- Método para la determinación del índice de eficiencia protéica, PER, y la razón protéica neta, NPR. Utilización de estos métodos, para evaluar la calidad alimenticia de distintas harinas de almendra de semilla de hule <u>Hevea brasiliensis</u>	147
F - Estimación de incertidumbre en los valores determinados experimentalmente en el presente estudio	151
G - Análisis de varianza y pruebas estadísticas relacionadas	153

12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65
66
67
68
69
70
71
72
73
74
75
76
77
78
79
80
81
82
83
84
85
86
87
88
89
90
91
92
93
94
95
96
97
98
99
100

1 - ... y ...
2 - ...
3 - ...
4 - ...
5 - ...
6 - ...
7 - ...
8 - ...
9 - ...
10 - ...
11 - ...
12 - ...
13 - ...
14 - ...
15 - ...
16 - ...
17 - ...
18 - ...
19 - ...
20 - ...
21 - ...
22 - ...
23 - ...
24 - ...
25 - ...
26 - ...
27 - ...
28 - ...
29 - ...
30 - ...
31 - ...
32 - ...
33 - ...
34 - ...
35 - ...
36 - ...
37 - ...
38 - ...
39 - ...
40 - ...
41 - ...
42 - ...
43 - ...
44 - ...
45 - ...
46 - ...
47 - ...
48 - ...
49 - ...
50 - ...
51 - ...
52 - ...
53 - ...
54 - ...
55 - ...
56 - ...
57 - ...
58 - ...
59 - ...
60 - ...
61 - ...
62 - ...
63 - ...
64 - ...
65 - ...
66 - ...
67 - ...
68 - ...
69 - ...
70 - ...
71 - ...
72 - ...
73 - ...
74 - ...
75 - ...
76 - ...
77 - ...
78 - ...
79 - ...
80 - ...
81 - ...
82 - ...
83 - ...
84 - ...
85 - ...
86 - ...
87 - ...
88 - ...
89 - ...
90 - ...
91 - ...
92 - ...
93 - ...
94 - ...
95 - ...
96 - ...
97 - ...
98 - ...
99 - ...
100 - ...

LISTA DE FIGURAS, GRÁFICAS Y CUADROS

Figura	Página
1. Estructuras de algunos glicósidos cianogénéticos.	11
2. Hidrólisis de la linamarina.	11
3. Biosíntesis de un glicósido cianogénético.	11
Gráfica	
1. Cianuro enlazado y cianuro libre, remanente en la almendra de hule, después de distintos tiempos de remojo.	51
2. Cianuro enlazado y cianuro libre, remanente en la almendra de hule, después de distintos tiempos de cocción.	53
3. Cianuro enlazado y cianuro libre, remanente en la almendra de hule, después de veinte horas de remojo y distintos tiempos de cocción.	55
4. Datos promedio, de peso y alimento ingerido por semana, para el grupo de animales de la Dieta-1, dieta de caseína de valor calórico normal.	73
5. Datos promedio, de peso y alimento ingerido por semana, para el grupo de animales de la Dieta-2, dieta de caseína de alto valor calórico.	74
6. Datos promedio, de peso y alimento ingerido por semana, para el grupo de animales de la Dieta-3, dieta libre de proteína, de valor calórico normal.	75
7. Datos promedio, de peso y alimento ingerido por semana, para el grupo de animales en la Dieta-4, dieta libre de proteína, de alto valor calórico.	75
8. Datos promedio, de peso y alimento ingerido por semana, para el grupo de animales de la Dieta-5, de almendra cocida y alto valor calórico.	76
9. Datos promedio, de peso y alimento ingerido por semana, para el grupo de animales de la Dieta-6, de almendra cocida-extraída y alto valor calórico.	76
10. Datos promedio, de peso y alimento ingerido por semana, para el grupo de animales de la Dieta-7, de almendra remojada y alto valor calórico.	77

- | | | |
|-----|--|----|
| 11. | Datos promedio, de peso y alimento ingerido por semana, para el grupo de animales de la Dieta-8, de almendra cruda, de alto valor calórico. | 78 |
| 12. | Datos promedio, de peso y alimento ingerido por semana, para el grupo de animales de la Dieta-9, de almendra cruda, de alto valor calórico. | 78 |
| 13. | Datos promedio, de peso y alimento ingerido por semana, para el grupo de animales de la Dieta-10, de almendra cocida (1980), de alto valor calórico. | 79 |
| 14. | Datos promedio, de peso y alimento ingerido por semana, para el grupo de animales de la Dieta-11, de almendra cocida-extraída, de valor calórico normal. | 79 |

Cuadro

- | | | |
|-----|---|----|
| 1. | Composición química de la almendra de hule <u>Hevea brasiliensis</u> . | 46 |
| 2. | Contenido de cianuro en almendra fresca de semilla de distintos clones de hule <u>Hevea brasiliensis</u> . | 47 |
| 3. | Contenido de cianuro en almendra de hule <u>Hevea brasiliensis</u> , después de someterla a distintos tiempos de remojo. | 50 |
| 4. | Contenido de cianuro en almendra de hule, después de someterla a tratamiento de distintos tiempos de cocción. | 52 |
| 5. | Contenido de cianuro en almendra de hule, después de veinte horas de remojo y distintos tiempos de cocción. | 54 |
| 6. | Contenido de cianuro en almendra de hule <u>Hevea brasiliensis</u> , después de someterla a treinta minutos de cocción y distintos tiempos de extracción de aceite, con hexano. | 58 |
| 7. | Composición química de las distintas harinas de almendra de hule, preparadas para su evaluación biológica. | 59 |
| 8. | Contenido de cianuro en las distintas harinas de almendra de hule, preparadas para su evaluación biológica. | 60 |
| 9. | Contenido de aminoácidos en la harina de almendra de hule, cocida por treinta minutos y extraída con hexano. | 63 |
| 10. | Contenido de lisina disponible en las distintas harinas preparadas con almendra de hule. | 64 |
| 11. | Componentes de las dietas preparadas para evaluar biológicamente la calidad alimenticia de distintas harinas de almendra de hule. | 65 |

	Página
12. Composición química y valor calórico de las dietas utilizadas en la evaluación biológica de distintas harinas de almendra de hule.	66
13. Valores de índice de eficiencia proteínica, PER, y datos relacionados, obtenidos en la evaluación biológica de distintas harinas de almendra de hule.	68
14. Valores de razón proteínica neta, NPR, y datos relacionados, obtenidos en la evaluación biológica de distintas harinas de almendra de hule.	72
15. Contenido de aminoácidos en la proteína de almendra de hule, de acuerdo a diferentes investigadores. Patrón Provisional de niveles sugeridos para humanos.	96
16. Punteo de aminoácidos de la harina de almendra de hule tratada por cocción y extracción con hexano.	97
17. Valores estimados, de ingesta diaria de cianuro, para los animales alimentados con dietas de harinas de almendra de hule, en la evaluación biológica de éstas.	108

Página

- 12. Composición química y valor calórico de las dietas utilizadas en la evaluación biológica de distintas partes de la almendra de nuez. 85
- 13. Valores de índices de eficiencia proteínicos, FEN, y datos relacionados obtenidos en la evaluación biológica de distintas partes de almendra de nuez. 86
- 14. Valores de índice proteínicos NPN, NPN, y datos relacionados obtenidos en la evaluación biológica de distintas partes de almendra de nuez. 87
- 15. Contenido de aminoácidos en la proteína de almendra de nuez de acuerdo a diferentes variedades (Pavón Provisional) de niveles sugeridos para humanos. 88
- 16. Datos de aminoácidos de la parte de almendra de nuez tratados por oxidación y extracción con hexano. 89
- 17. Valores relativos de ingestas dietas de consumo, para los niveles alimentados con dietas de partes de almendra de nuez, en la evaluación biológica de éstas. 90

I. INTRODUCCION

Uno de los cultivos importantes en Guatemala es el de Hevea brasiliensis, árbol comunmente conocido como hule o hule del Pará. Hevea brasiliensis es cultivado para obtener su látex, materia prima para la producción de caucho o hule natural.

En ciertas regiones de Sudamérica y Asia donde se cultiva Hevea brasiliensis, las personas que habitan cerca o en las plantaciones han observado que la semilla de este árbol puede utilizarse como alimento, para humanos y para animales y la aprovechan para ello; además han observado, que contiene aceite de propiedades secantes y que la torta residual resultante después de la extracción de este aceite, también puede utilizarse como alimento. (Hill, 1937; Polhamus, 1962; Lauw et al, 1967).

En Guatemala, la semilla de Hevea brasiliensis es exclusivamente utilizada como uno de los medios de propagación de la planta, lo cual significa que de toda la semilla que se produce, una fracción muy pequeña se aprovecha, y el resto se desperdicia.

Puesto que la utilización de los productos y subproductos vegetales, es un aspecto importante del aprovechamiento de los recursos de un país, varios investigadores de distintos lugares del mundo se han interesado en estudiar las propiedades, composición química y valor nutritivo de la almendra de semilla de Hevea brasiliensis,

Los resultados de los distintos investigadores concuerdan en ciertos aspectos sobre la almendra de semilla de Hevea brasiliensis y difieren en otros. Ha quedado establecido que el contenido de aceite en la almendra es relativamente alto y que, en efecto, posee propiedades secantes; además,

que contiene un nivel adecuado de proteína para poderse utilizar como suplemento en alimentación y también contiene ciertos factores tóxicos. (Lauw et al, 1967; Elías, 1971; Fetuga et al, 1977). Se ha probado que la semilla es una buena fuente de energía y proteína para suplementar dietas de terneros (Viswanathan et al, 1979) y se piensa que también podría serlo para humanos, después de un cierto procesamiento (Lauw et al, 1967).

En Guatemala se han hecho estudios preliminares del valor nutritivo del aceite y la torta de almendra de semilla local de Hevea brasiliensis (Rosal, 1970; Elías, 1971); en esos trabajos se dan ciertas conclusiones y se dice que para poder concluir sobre otros aspectos, es necesario investigar más acerca de ellos.

La composición química de las semillas u otras partes de una especie vegetal, depende de la variedad de la especie, de las condiciones de clima y suelo en que vive la planta y además de aspectos sobre el modo en que ha sido tratado este material, por ejemplo, del tipo de almacenamiento al que ha sido sometido, después de cosechado.

Para poder aprovechar adecuadamente la semilla de Hevea brasiliensis en Guatemala, es necesario realizar más investigaciones para conocer mejor sus propiedades, composición química y valor nutritivo. El presente trabajo, es una investigación de la composición química y el valor nutritivo de la almendra de semilla de Hevea brasiliensis. Se investigan aspectos del contenido de factores nutricionales y también del contenido de factores tóxicos. Se hacen pruebas nutricionales, alimentando ratas con dietas que incluyen distintas harinas de almendra de hule.

Este trabajo cubre una parte del proyecto de estudio de Ing. Elvira G. de Mejía, de la Universidad del Valle de Guatemala, sobre la factibilidad de la utilización de los productos y subproductos de Hevea brasiliensis.

II. ANTECEDENTES

A. Hevea brasiliensis

1. Taxonomía

Hevea brasiliensis es una planta de la familia Euphorbiaceae de las angiospermas dicotiledoneas (Hill, 1937).

Económicamente Hevea brasiliensis es la especie más importante del género Hevea; existen otras 7 u 8 especies de este género, siendo algunas de ellas H. benthamiana, H. guianensis y H. spruceana. (Polhamus, 1962).

2. Descripción

Hevea brasiliensis es un árbol robusto que a los ocho años de edad alcanza una altura cercana a los 15 m. y una circunferencia, en el tronco, de cerca de 0.6 m., a una altura de 1 m. del suelo.

El tronco es liso y produce mucho látex blanco o blanco crema al hacerle incisiones a la corteza.

Las hojas son trilobadas; las flores son pequeñas y unisexuales, siendo las masculinas más abundantes que las femeninas y dándose las dos en el mismo racimo, en las extremidades de las ramas nuevas.

El fruto es trilobado y mide alrededor de 6 cm. de diámetro; contiene tres semillas que miden de 2 a 3 cm. de largo cada una y tienen una cáscara resistente, lisa y de color

café claro con manchas café oscuro. Estas semillas caen al suelo cuando el fruto, estando en el árbol, madura y se abre. La almendra de la semilla es blanda y de color blanco crema. (Hill, 1937; Polhamus, 1962; Escobar, sin año).

3. Distribución geográfica

Hevea brasiliensis y las demás especies del mismo género son nativas de las selvas calientes y húmedas del valle del Amazonas y el valle del Orinoco en América del Sur; Hevea brasiliensis es conocido como árbol de hule del Pará, siendo Pará, el nombre de un estado y de un río de la región brasileña del Amazonas.

Hoy en día Hevea brasiliensis es cultivado en todas las regiones tropicales húmedas del mundo; la mayor parte se cultiva en el Lejano Oriente, esto es, en Tailandia, Malasia, Indonesia, Ceilán y otros países de la región y se cultiva en menor grado en Africa y en América. (Hill, 1937; Polhamus, 1962).

4. Utilización

La importancia económica de Hevea brasiliensis se debe al látex que su tronco produce, cuando se le hacen incisiones en su corteza; es la planta cuya producción de látex, para la obtención de caucho o hule natural, resulta más ventajosa, por lo que hoy en día es la fuente del 99% del hule natural que se produce en el mundo. (Hill, 1937; Polhamus, 1962).

El hule natural se obtenía en América de distintas

plantas silvestres, incluyendo Hevea brasiliensis, desde antes de la llegada de Colón. Las plantaciones de Hevea brasiliensis se iniciaron en el s. XIX; fue en 1876 cuando por medio de los británicos se iniciaron las plantaciones del Lejano Oriente a partir de almácigos de semillas obtenidas en el Brasil y hoy en día son estas plantaciones las que producen la mayor parte del hule en el mundo. (Hill, 1937).

No hay ninguna otra parte del árbol de Hevea brasiliensis que sea explotada en el grado en que es explotado el látex.

La semilla es utilizada como uno de los medios de propagación de la planta y sólo en ciertas regiones del mundo, y en pequeño grado, es utilizada como fuente de aceite y alimento.

Se cree que el primer uso que le dieron a Hevea brasiliensis los aborígenes del Amazonas fue el de utilizar sus semillas como alimento; aparentemente su consumo era común solo en la región noroeste del valle del Amazonas y en otras regiones se limitaba a épocas de hambruna cuando no había otro alimento disponible. (Polhamus, 1962).

En ciertos lugares de la región de origen de Hevea brasiliensis, en la actualidad, se extrae el aceite de la semilla y se utiliza como aceite secante; la torta resultante, harina desgrasada, es utilizada para alimentar ganado. (Hill, 1937).

Personas que habitan cerca o en las plantaciones de Hevea brasiliensis de ciertas regiones del Lejano Oriente utilizan la semilla como alimento, (Lauw et al, 1967).

B. Composición química y valor nutritivo de la semilla de Hevea brasiliensis

Ha habido interés por estudiar la composición química y el valor nutritivo de la almendra de semilla de Hevea brasiliensis en varios países del mundo, entre ellos, Gran Bretaña (Auld, 1912-3), Indonesia (Lauw et al, 1967), Guatemala (Rosal, 1970; Elías, 1971; Lottmann, 1982), Estados Unidos de América (Orok and Bowland, 1974), Nigeria (Fetuga et al, 1977) e India (Viswanathan et al, 1979).

Los distintos investigadores han concordado en algunos resultados y han diferido en otros. Ha quedado establecido que la semilla contiene una cantidad aceptable de proteína y un porcentaje relativamente alto de aceite de propiedades secantes, y también, que contiene compuestos que liberan ácido cianhídrico, HCN, factor tóxico. (Auld, 1912-3; Lauw et al, 1967; Rosal, 1970; Elías, 1971; Fetuga et al, 1977; Lottmann, 1982).

Algunos otros resultados indican que el contenido de aceite es cercano al 40,5% en la almendra de hule seca y también, que dietas que incluyen este aceite tienen efectos tóxicos en ratas, cuando no se le da ningún tratamiento al aceite; la torta puede ser de utilidad en la suplementación de dietas a base de cereales. (Elías, 1971).

La almendra completa puede ser buena fuente de proteína y energía, para alimentar animales, al mismo tiempo que una buena fuente de calcio, fósforo, potasio, hierro y cinc; la torta completa tiene mayor valor nutritivo que la torta desgrasada, pero tiene valor nutritivo pobre en comparación con la torta de soya y la torta de

maní, según pruebas realizadas con ratas. Los aminoácidos limitantes son lisina y metionina principalmente. (Fetuga et al, 1977).

La semilla contiene un glicósido cianogénico llamado linamarina, en una cantidad tal, que al hidrolizarse se liberan cerca de 91 μg . HCN/g. de tejido fresco, (Butler, 1965). La presencia de un glicósido cianogénico en Hevea brasiliensis fue reportada por Dunstan en 1907 (Auld, 1913-3) y fue Gorter en 1912, quien reportó que ese glicósido cianogénico es linamarina.

El hecho de que la semilla contenga glicósidos cianogénicos podría no ser problema si se aplicaran métodos de preparación adecuados, semejantes a los utilizados para la yuca, con el mismo propósito, remojo con varios cambios de agua y hervor en un recipiente destapado; uno de los compuestos tóxicos de la yuca, es también el glicósido cianogénico linamarina, (Cooke, 1978).

No se encontró evidencia de toxicidad en ratas, al hacer algunas pruebas biológicas con dietas que incluyan torta de almendra cruda desgrasada por prensado, torta de almendra cocida desgrasada por prensado y/o solventes. Esta almendra podría ser un buen suplemento del maíz y un buen alimento, no solo para animales, sino que también para humanos, al ser adecuadamente procesada. (Lauw et al, 1967).

Niveles del 7 al 12% de almendra de semilla fresca descortada o semilla tratada en autoclave, dan resultados eficientes en la suplementación de torta de soya o de maní en dietas para ratas. (Orok and Bowland, 1974).

La torta de almendra de semilla de Hevea brasiliensis puede ser incorporada en el concentrado de terneros en un 30%, con ventajas económicas y alimenticias (Viswanathan et al, 1979).

Algunas de las contradicciones en los resultados de las investigaciones hechas sobre esta almendra son, por ejemplo, aquellos sobre la termolabilidad de los factores tóxicos. Según un estudio, el valor nutritivo de la torta completa y el de la torta desgrasada no mejora, al aplicarles tratamiento térmico húmedo, lo cual sugiere ausencia de factores antinutricionales termolábiles (Fetuga et al, 1977). Y según otro estudio, realizado con ratas, los efectos tóxicos de las dietas que incluyen aceite de la almendra, disminuyen al hacerle tratamiento térmico al aceite, lo cual sugiere que los factores tóxicos presentes, son termolábiles (Elías, 1971).

En cuanto a los glicósidos cianogénéticos, se sabe que son compuestos termoestables (Montgomery, 1980).

En el Lejano Oriente, la semilla de Hevea brasiliensis es un alimento reconocido, ya que parte de su composición química aparece en un cuadro de composición de alimentos de la región, Food Composition Table for use in East Asia (FAO, 1972). En ese cuadro se indica el contenido de humedad, nitrógeno y proteína cruda; además se presenta el contenido de aminoácidos de este producto. Parte de lo indicado es lo siguiente:

	g./100 g. parte comestible
Humedad	3.6
Nitrógeno	4.16
Proteína cruda (Nx6.25)	26.0

Los resultados obtenidos, sobre el contenido de proteína, fibra cruda, extracto etéreo, cenizas, minerales, aminoácidos y ácido cianhídrico, HCN, en muestras vegetales, varían de un estudio a otro. Las principales causas de las diferencias, son las variaciones en las condiciones de vida de las plantas de las cuales se ha obtenido el material, esto es, clima, suelo, edad de la planta, etc. (Orok and Bowland, 1974), como también la variedad de la especie y en ciertos casos, como el del HCN, el tratamiento que se le da al material y el método utilizado para la cuantificación.

Los resultados de las pruebas nutricionales con animales varían de un estudio a otro dependiendo de los métodos utilizados para preparar el material vegetal y de las condiciones del experimento. Se obtienen distintos resultados al experimentar con distintos animales, ya que no todas las especies responden igual.

La presencia de compuestos liberadores de HCN en la almendra de Hevea brasiliensis, limita el consumo animal y humano de ésta, a productos cuidadosamente procesados en los que se haya eliminado la toxicidad; el HCN puede ser causa de intoxicación aguda y también causa de problemas crónicos, (Bourdoux et al, 1980).

Para que la utilización de la almendra de Hevea brasiliensis, se pueda hacer a gran escala, es necesario desarrollar métodos

prácticos y rentables para recolectarla, descorticarla y procesarla. Puesto que es fuente tanto de aceite como de torta desgrasada comestible, puede tratársele como una de las semillas oleaginosas comestibles. Esto significa que puede removerse el aceite por prensado mecánico, extracción con solventes o una combinación de los dos métodos, y procesar la torta residual para obtener productos para alimentación. Las condiciones de estos procesamientos deben seleccionarse a modo que se logre remover la mayor cantidad de aceite causando el menor daño posible al valor nutritivo del harina; los solventes pueden tener, en ciertos casos, efecto adverso sobre el valor proteínico del harina, como también tener un efecto tóxico si no son completamente eliminados (Neucere and Ory, 1968).

También es posible usar la torta completa, torta no desgrasada, para alimentación pues el aceite puede ser una buena fuente de energía.

C. Glicósidos cianogénicos

1. Descripción

Los glicósidos cianogénicos son derivados de azúcares que dan origen a ácido cinhídrico, HCN, por hidrólisis de tipo enzimático, principalmente. Al hidrolizarse el glicósido cianogénico se obtiene un sacárido, glucosa el más común, y una aglicona que es un α -hidroxinitrilo o sea una cianohidrina; este último da al hidrolizarse HCN y un aldehído o una cetona. (Conn and Butler, 1969). En la Figura 2 se presenta la ecuación de la hidrólisis de un glicósido cianogénico.

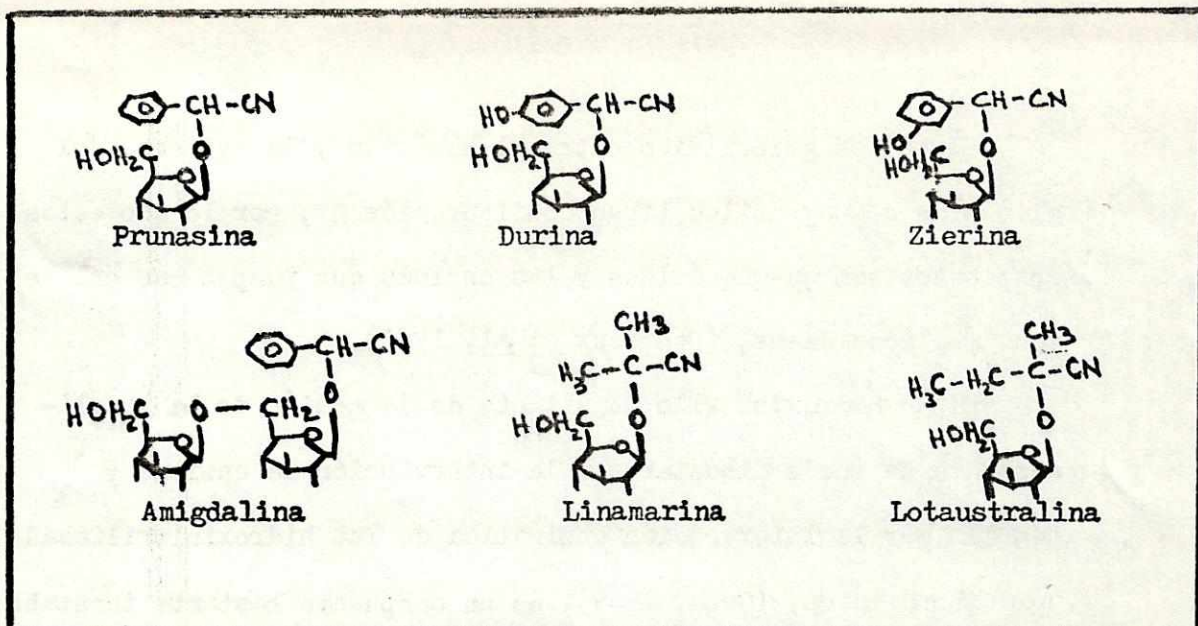


Figura 1. Estructuras de algunos glicósidos cianogénicos. (Conn, 1969)

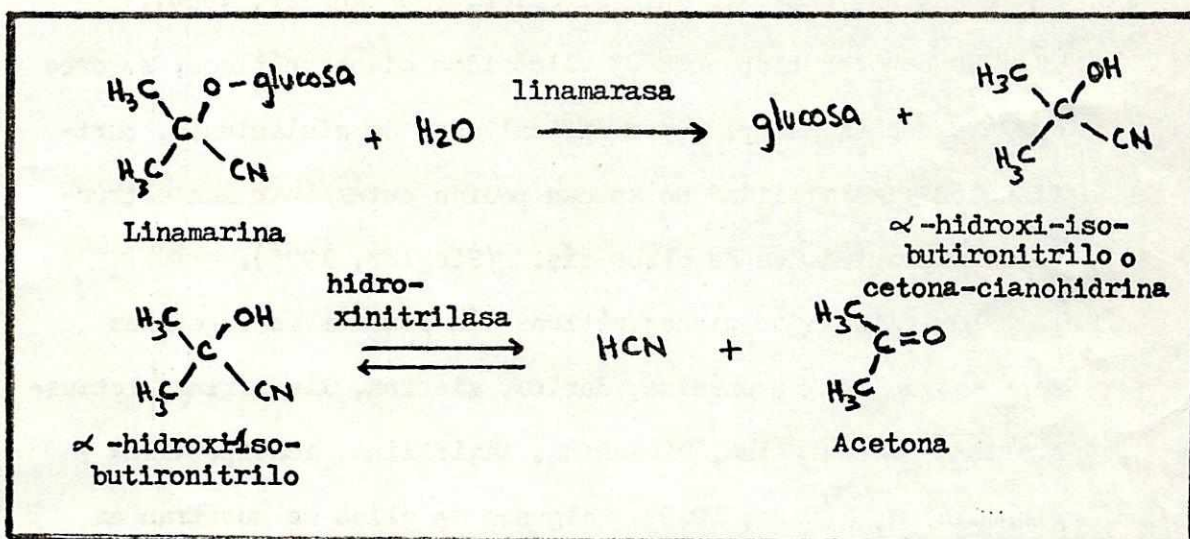


Figura 2. Hidrólisis de la linamarina. (Conn, 1969).

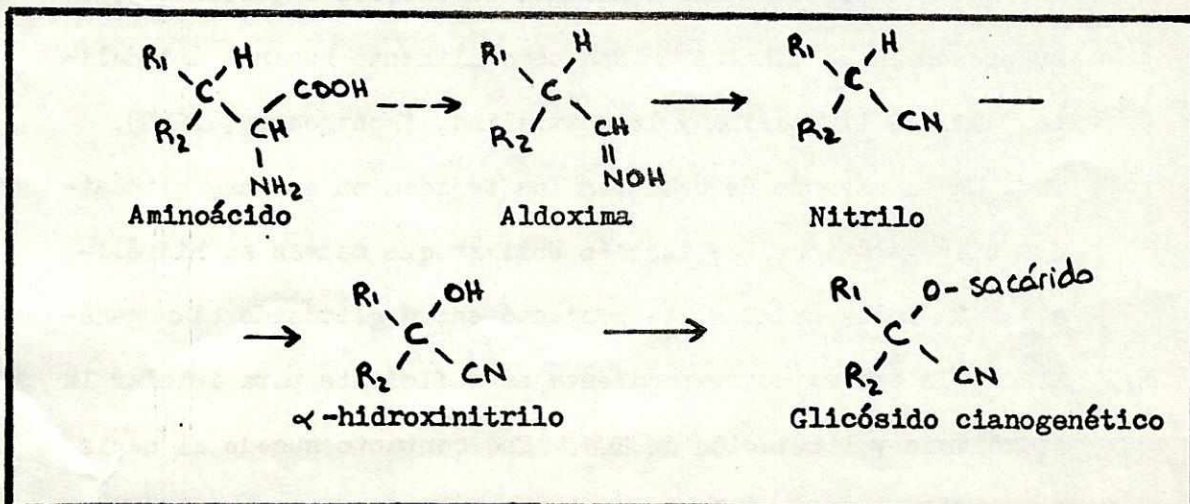


Figura 3. Biosíntesis de un glicósido cianogénico. (Conn and Butler, 1969).

El enlace glicosídico entre el sacárido y la aglicona del glicósido cianogénico, tiene configuración β , por lo que estos compuestos son β -glicósidos y las enzimas que rompen ese enlace, son β -glicosidasas, (Bourdoux et al, 1980).

El α -hidroxinitrilo resultante de la acción de la β -glicosidasa se puede disociar sin la intervención de enzimas y también, por la intervención enzimática de las hidroxinitriliadas correspondientes, (Conn, 1969); es un compuesto bastante inestable.

Los glicósidos cianogénicos son compuestos poco solubles en agua y muy estables ante el calor, (Montgomery, 1980).

Se conocen bien unos 23 glicósidos cianogénicos; se cree que hay muchos más pero por dificultades de aislamiento, purificación y estabilidad no se han podido determinar las estructuras y propiedades de otros más. (Siegler, 1975).

Los glicósidos cianogénicos más comunes en vegetales son: amigdalina, prunasina, durina, zierina, linamarina, lotaustralina, sambunigrina, vicianina, taxifilina, acacipetalina y ginocardina, (Conn, 1969). Algunos de ellos se muestran en la Figura 1. Son principalmente cuatro, los importantes por su presencia en plantas usadas como alimento humano: amigdalina, durina, linamarina y lotaustralina, (Montgomery, 1980).

En la mayoría de casos, en los tejidos en que hay glicósidos cianogénicos, hay también enzimas que causan su hidrólisis. En los vegetales, el contacto entre glicósido cianogénico y la enzima correspondiente, es suficiente para iniciar la hidrólisis y liberación de HCN. Ese contacto sucede al herir los tejidos o con cualquier otro proceso que cause ruptura de

las paredes celulares, como molienda, congelamiento, presencia de agentes químicos, etc. (Bourdoux et al, 1980).

Cada glicósido cianogénico tiene distintas condiciones óptimas de hidrólisis y no todos responden igual ante una misma β -glicosidasa. Los extractos enzimáticos obtenidos de tejidos vegetales son, la mayoría, mezclas de enzimas con distintas actividades y no son absolutamente específicas. (Siegler, 1975).

Los glicósidos cianogénicos son normalmente aislados de materiales vegetales molidos, por extracción con solventes como etanol, metanol, agua o mezclas de éstos. El extracto es llevado inmediatamente a ebullición para desactivar las enzimas hidrolíticas presentes. Para purificar los glicósidos cianogénicos así extraídos se remueven lípidos, otros compuestos ácidos, compuestos básicos, fenólicos, iónicos y azúcares. Los glicósidos cianogénicos puros o ciertos derivados de ellos son estudiados con espectroscopía infrarroja, ultravioleta y de resonancia magnética nuclear. (Siegler, 1975).

Se ha probado para ciertos glicósidos cianogénicos que su precursor biosintético es un aminoácido y que su síntesis sucede con intervención de oximas, nitrilos y α -hidroxinitrilos, siendo un posible camino de síntesis el que se presenta en la Figura 3 (Conn and Butler, 1969).

Una primera idea, sobre el aminoácido precursor de un glicósido cianogénico, se obtiene por semejanza estructural entre el aminoácido y el glicósido cianogénico. Por ejem-

plo, tirosina parece ser el precursor de durina y taxifilina, fenilalanina el de prunasina, amigdalina y otros, valina el de linamarina e isoleucina el de lotaustralina. (Siegler, 1975).

Los glicósidos cianogénéticos son termoestables, pero las β -glicosidasas que los hidrolizan son termolábiles. (Ammerman, 1975).

2. Distribución en la naturaleza

Se encuentran glicósidos cianogénéticos en ciertos hongos, musgos, gimnospermas, angiospermas y en ciertos insectos, (Siegler, 1975).

En los insectos, se cree que su función es intervenir en mecanismos de defensa y ataque, (Bourdoux *et al.*, 1980).

En plantas están presentes en unas 750 especies, representantes de unas 60 familias y 250 géneros, (Conn and Butler, 1969). Algunas de las familias vegetales y especies de éstas en que se encuentran son: familia Leguminosae, en Phaseolus lunatus conocido como frijol lima; familia Euphorbiaceae, en Manihot esculenta, que es la yuca y en Hevea brasiliensis y en familia Gramineae, en Sorghum vulgare, que es el sorgo. (Siegler, 1975).

Desde hace unos 150 años se sabe que la toxicidad de ciertas plantas se debe a la liberación de HCN, pero fue hasta bastantes años después que se supo, que entre los compuestos responsables de esa toxicidad, estaban los glicósidos cianogénéticos, (Montgomery, 1964).

El contenido de glicósidos cianogénéticos en las plantas,

difiere según la variedad de la especie, la parte de la planta, las condiciones climáticas en las que vive la planta, la madurez del tejido y los métodos de almacenamiento después de la cosecha, (Montgomery, 1965). También difiere, con la presencia de ciertos iones en la planta, el tipo de suelo, la estación del año y la hora del día, (Bourdoux et al, 1980).

El único tratamiento efectivo que se les podría aplicar a las plantas, para reducir su cianogénesis, es un tratamiento genético; tratamientos fisiológicos no funcionan, pues el contenido de glicósidos cianogenéticos en las plantas, está controlado por interacciones fisiológicas muy complejas, (Butler et al, 1973).

La yuca y el frijol lima son los principales alimentos humanos que contienen glicósidos cianogenéticos, en cantidades tales que son consideradas peligrosas, (Wood, 1965). Hay glicósidos cianogenéticos, pero en cantidades menores, en otras plantas consumidas por el hombre como camote, ciertas arbejas y frijoles, ciertas almendras y en las semillas de ciruela y albaricoque, (Montgomery, 1980).

La raíz completa de yuca, contiene glicósidos cianogenéticos en cantidades tales, que al hidrolizarse liberan cerca de 7-113 mg. HCN/100 g. de tejido fresco; la concentración de éstos compuestos varía dependiendo de la parte de la raíz de que se trate. El frijol lima libera de 10 a 312 mg. HCN/100 g. de tejido fresco, según la variedad. (Montgomery, 1965; Ammerman, 1975; Cooke and Maduagwu, 1978).

La función de los glicósidos cianogenéticos en los

vegetales que los contienen no se conoce bien; aparentemente son productos secundarios, que no tienen funciones en el metabolismo (Conn, 1969), aunque parece ser, que del HCN que de ellos resulta, la planta puede producir el grupo amida del aminoácido asparagina (Conn and Butler, 1969). Existe la teoría de que una posible función de los glicósidos cianogénéticos en las plantas, es la de defensa contra el ataque de insectos; se cree que cuando el insecto daña el tejido, se produce hidrólisis del glicósido cianogénético y el insecto puede ser envenenado, por el HCN liberado. (Wood, 1966).

3. Toxicidad

Cualquier sustancia que pueda producir la especie iónica CN^- , debe ser considerada peligrosa, (Lbianca, 1979). La toxicidad del ión CN^- , cianuro, se debe a que es un inhibidor poderoso de varios procesos esenciales, catalizados por enzimas del organismo, (Tewe et al, 1977).

Los glicósidos cianogénéticos son peligrosos puesto que son capaces de producir cianuro, por hidrólisis, (Conn, 1969). Se han producido casos de envenenamiento fatal en ganado, animales silvestres y en menor número, en seres humanos, por consumir alimentos que contienen glicósidos cianogénéticos, (Lbianca, 1979). Algunas plantas cianogénéticas contienen compuestos amargos que evitan que sean consumidas en grandes cantidades, (Conn, 1969).

La toxicidad de un alimento vegetal, que contiene gli-

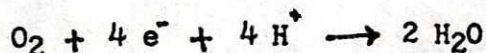
cósidos cianogénicos, depende de la capacidad que la planta tiene de producirlos y además de; el sujeto que ingiere el alimento, esto es, de si es un ser humano o de si es un animal y en este caso de qué tipo sea y de qué tamaño; la velocidad de ingestión del alimento; el tipo de alimento ingerido a la par del alimento cianogénico; la presencia de enzimas capaces de hidrolizar los glicósidos cianogénicos, tanto en el alimento, como en el tracto digestivo del sujeto; la habilidad del sujeto para destoxificar el cianuro. (Conn, 1973).

La dosis letal de HCN para humanos adultos es de 50-60 mg. o bien de 0.5-3.5 mg./Kg. de peso corporal. Para animales, la dosis letal varía de una especie a otra, siendo en ganado vacuno y ovejas de cerca de 2 mg./Kg. de peso corporal cuando es ingerido oralmente de una sola vez. (Bourdoux et al, 1980).

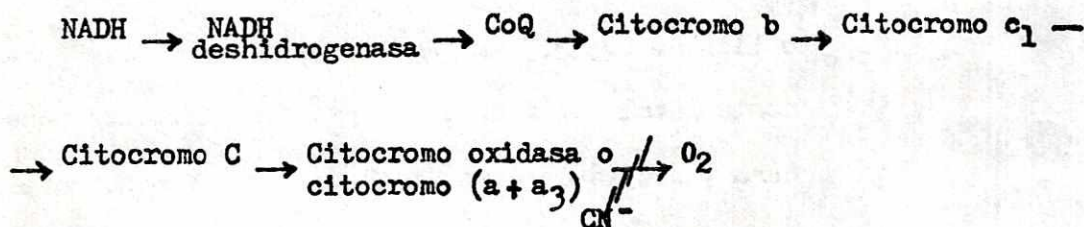
Aparentemente los mamíferos no tienen enzimas digestivas capaces de hidrolizar los glicósidos cianogénicos, sin embargo, se piensa que hay en el tracto digestivo, bacterias que producen enzimas capaces de producir la hidrólisis, pues se ha observado en experimentos con animales, que glicósidos cianogénicos ingeridos puros han tenido efectos tóxicos en ciertos casos, (Conn, 1973).

El principal efecto del cianuro en el organismo, es que interrumpe la cadena respiratoria celular, la cual ocurre en las mitocondrias. La cadena respiratoria permite que se utilice alrededor del 90% del oxígeno consumido por las células

vivas de los organismos aeróbicos, de acuerdo a la ecuación



y se llenen así los requerimientos energéticos de estos organismos. El cianuro inhibe la transferencia de esos cuatro electrones necesarios para la utilización del oxígeno, actuando en el punto en que la citocromo oxidasa transfiere los electrones al oxígeno. La ecuación de esta transferencia de electrones hasta el oxígeno y el lugar donde actúa el cianuro son:



El ión cianuro se enlaza a una parte de la citocromo oxidasa o citocromo (a + a₃), que es una metaloenzima y bloquea así la respiración celular. El cianuro es capaz de enlazarse a otras metaloenzimas y alterar otras reacciones, pero para ello se necesitan concentraciones mayores que la necesaria para inhibir la citocromo oxidasa. (Stryer, 1976; Labianca, 1979).

Dosis subletales frecuentes de cianuro, acompañadas de deficiencias nutricionales del organismo, contribuyen a causar problemas neurológicos crónicos, como la llamada neuropatía atáxica tropical, observada en regiones del Africa en que hay un consumo alto de yuca y una desnutrición proteínica;

los problemas resultan por una destoxificación deficiente del cianuro en el organismo. (Bourdoux et al, 1980).

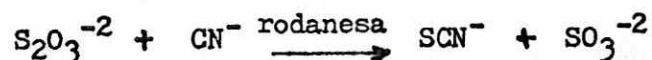
Se ha comprobado también, que dosis subletales frecuentes de cianuro, acompañadas de deficiencias nutricionales, contribuyen a causar bocio; resulta así, que alimentos con alto contenido de glicósidos cianogénicos, como la yuca, son bociogénicos pues el ion tiocianato, SCN^- , producto de la destoxificación del cianuro en el organismo, compete con el yodo al nivel de la enzima peroxidasa e inhibe así la presencia del yodo necesario en la tiroides. (Bourdoux et al, 1980). El efecto combinado de niveles altos de tiocianato y niveles bajos de yodo, es similar al efecto de una insuficiencia severa de yodo, (De-lange et al, 1980). Resultan de estos efectos, regiones de bocio endémico donde un porcentaje alto de niños presenta hipotiroidismo al nacer; éste perdura por algún tiempo y da lugar a anormalidades en el desarrollo físico y mental, características del cretinismo endémico. (Ermans, 1980).

4. Mecanismos de destoxificación de cianuro en el organismo

El organismo tiene varios mecanismos para destoxificar cianuro; estos mecanismos son efectivos cuando la dosis de cianuro es subletal y cuando el cuerpo está en buenas condiciones nutricionales.

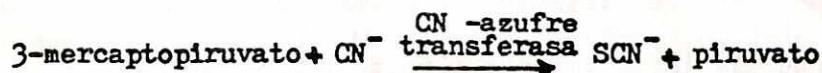
En los distintos mecanismos de destoxificación intervienen distintas enzimas, siendo algunos compuestos control, la rodanasa o tiosulfato-azufre-transferasa, la piruvato-azufre-transferasa, la cistina y la cianocobalamina o vitamina B₁₂.

El principal camino de detoxificación es el de la conversión del del ion cianuro a ion tiocianato; este mecanismo es controlado por la rodanesa, quien permite la transferencia de un átomo de azufre de un donador, el tiosulfato, al aceptor, el cianuro. El tiosulfato proviene de aminoácidos azufrados; la reacción es;



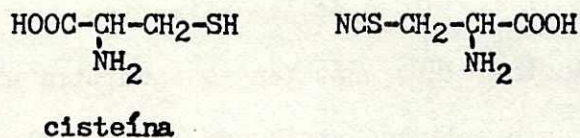
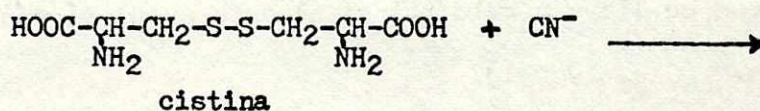
La rodanesa se encuentra en las mitocondrias de todo el cuerpo, pero principalmente, en las del hígado y los riñones. El contenido de rodanesa en el hígado, varía de una especie a otra, lo que en parte puede explicar la diferente susceptibilidad de las distintas especies a intoxicación con cianuro. El tiocianato, producto de este mecanismo, es eliminado del cuerpo principalmente por excreción en la orina. (Bourdoux et al, 1980). El limitante en este proceso de detoxificación, en una especie dada, parece ser el tiosulfato y no la enzima, (Himwich and Saunders, 1948).

Otro mecanismo de detoxificación de cianuro es la reacción de éste con el 3-mercaptopiruvato, proveniente de L-cisteína; esta reacción sucede por la acción de una azufre transferasa según la siguiente ecuación:



(Bourdoux et al, 1980).

Hay otro mecanismo de detoxificación por el cual el ion cianuro reacciona con la cistina; se produce cisteína y β -tiocianoalanina y ésta última se convierte, por tautomerización, en dos especies equivalentes que pueden ser excretadas en la orina. Esta reacción es rápida pero no hay evidencia de catálisis enzimática en ella. Sucede según la siguiente ecuación:



(Wood and Cooley, 1956).

Otro mecanismo, es la reacción del cianuro con la hidroxocobalamina; se forma cianocobalamina o vitamina B₁₂. Esta misma cianocobalamina es la fuente de hidroxocobalamina ya que libera el ion cianuro el cual reacciona, para formar otros compuestos no tóxicos. (Bourdoux et al, 1980).

Existe un mecanismo también, en el que el cianuro es descompuesto a dióxido de carbono, (Bourdoux et al, 1980).

Es importante notar el gran papel que desempeñan los aminoácidos azufrados en la detoxificación del cianuro; un suministro inadecuado del aminoácido azufrado esencial, la metionina, hace ineficiente la detoxificación, ya que la metionina, al metabolizarse, da origen a cistina, cisteína y azufre en

otras formas, como por ejemplo, en forma de tiosulfato.

(Bourdoux et al, 1980).

Cuando se ingieren glicósidos cianogénicos y éstos no son hidrolizados, pasan intactos a la sangre y luego a la orina o no son absorbidos en el intestino, siendo excretados en las heces; los glicósidos cianogénicos no se almacenan en los tejidos del organismo; la detoxificación del cianuro producido, cuando sí se han hidrolizado los glicósidos cianogénicos, se lleva a cabo principalmente en el hígado y los riñones. (Oke, 1980-1).

5. Eliminación de la toxicidad de los alimentos

En las plantas cianogénicas se encuentra el cianuro en dos formas, cianuro enlazado y cianuro libre. El cianuro enlazado o glicosídico es el que aún está formando parte de los glicósidos cianogénicos y el cianuro libre es el que ya ha sido liberado, por la hidrólisis de los glicósidos cianogénicos y se encuentra en solución. (Cooke et al, 1978).

Procesos, como secado al aire, hervor y remojo en agua eliminan un porcentaje alto del cianuro presente en forma libre en el alimento y un porcentaje no tan alto, del cianuro presente en forma enlazada, (Cooke et al, 1978). Para eliminar el cianuro libre se debe lograr que el HCN en solución pase a HCN gaseoso y sea así eliminado o que pase a disolverse en el agua de remojo, la cual es luego descartada. Para eliminar el cianuro enlazado se debe lograr primero, pasarlo a forma libre,

esto es, lograr que actúen las enzimas que causan la hidrólisis de los glicósidos cianogénicos presentes y luego eliminarlo como HCN gaseoso o disuelto en el agua de remojo.

Puesto que las enzimas que causan la hidrólisis están presentes en el alimento en cantidades tales que pueden actuar sobre una buena parte de los glicósidos cianogénicos pero, aparentemente, no sobre la totalidad de ellos (Wood, 1966), no todo el cianuro puede ser eliminado por la actuación de las enzimas endógenas, pero sí una buena parte de él. El principal proceso, que contribuye al paso del cianuro en forma enlazada a forma libre, es el fraccionamiento o la molienda del alimento húmedo, ya que al hacer ésto se está propiciando el contacto entre glicósido y glicosidasa, y con ello, la hidrólisis y liberación de HCN.

Pequeños errores en los procesos de preparación de alimentos cianogénicos pueden causar una eliminación deficiente de la toxicidad; por ejemplo, si se hierve el alimento en un recipiente tapado no se está permitiendo que parte del cianuro libre se elimine como HCN gaseoso y entonces queda retenido; si el alimento ya cocinado se mezcla con otro alimento vegetal crudo, que contenga β -glicosidasas que puedan actuar sobre los glicósidos que no fueron hidrolizados, se produce más cianuro libre en el alimento y aumenta la toxicidad de éste si ese cianuro libre no es eliminado. (Montgomery, 1965).

Los métodos tradicionales para preparar alimentos cianogénicos como la yuca son bastante eficientes en cuanto a la eliminación de la toxicidad del cianuro; se ha observado que sólo en regiones de alto consumo de yuca, en que además, la población

tiene deficiencias nutricionales esos métodos no son lo suficientemente eficientes, ya que resultan problemas crónicos debidos al cianuro ingerido.

Entre los métodos tradicionales de destoxificación de la raíz de yuca están:

remojo, ya sea del tejido entero o del tejido fraccionado, en agua estacionaria o en agua corriente; hervor del tejido entero o fraccionado con uno o varios cambios de agua; fermentación espontánea, seguida de lavado o lavado y calentamiento; fermentación inducida con inoculación de fermentaciones previas, seguida por lavado o lavado y calentamiento.

(Okigbo, 1980).

El modo en que la fermentación contribuye a eliminar la toxicidad es, que da lugar a ruptura de las paredes celulares y con ello, a acción de la glicosidasa sobre el glicósido; luego, como se produce un pH bastante bajo en el medio, esto contribuye a que el cianuro libre en solución pase a forma gaseosa, (Wood, 1966).

Las condiciones de almacenamiento, del alimento cianogénico, también pueden contribuir a la eliminación de parte de su toxicidad; almacenamiento en condiciones húmedas y calientes causan cierta formación de cianuro libre, que es gradualmente perdido al ambiente; ésto no sucede en condiciones de almacenamiento seco y frío, donde el rendimiento potencial de cianuro se mantiene casi constante. (Montgomery, 1965).

Se puede decir, que se logra una eliminación de la toxicidad de los alimentos cianogénicos si:
 primero, se fracciona el alimento húmedo y se permite que las glicosidasas presentes actúen sobre el cianuro enlazado, quedando en su gran mayoría, el cianuro, en forma libre; luego, se remoja el alimento y se le hacen varios cambios de agua, llevándolo después a ebullición en un recipiente destapado y haciendo varios cambios de agua; ésto permite eliminar el cianuro libre tanto como HCN gaseoso como HCN en solución y al mismo tiempo, por el tratamiento térmico, desactivar las glicosidasas presentes, para que ya no causen hidrólisis del cianuro enlazado remanente.

6. Glicósidos cianogénéticos en Hevea brasiliensis

En la semilla de Hevea brasiliensis se ha detectado, como probablemente el único glicósido cianogénético presente, linamarina. Se detectó en una cantidad tal, que liberó 91 μ g. HCN/g. de tejido fresco, por hidrólisis con linamarasa exógena (Butler, 1965).

La linamarina es el 2(β -D-glucopiranosiloxi)isobutironitrilo y la linamarasa es la linamarina- β -D-glucósido-glucohidrolasa, EC 3.2.1.21 (Cooke et al, 1978).

La enzima que mejor hidroliza a la linamarina es la β -glicosidasa linamarasa; otras β -glicosidasas también la hidrolizan, pero muy lentamente, como es el caso del sistema enzimático obtenido de la almendra, conocido como emulsina. (Butler et al, 1965).

En general, se ha encontrado en plantas superiores, que cuando está presente la linamarina, también está presente la lotaustralina; Hevea brasiliensis es la única excepción que por ahora se ha encontrado a ésto. La ausencia de lotaustralina se puede deber a que en esta especie, las enzimas involucradas en la biosíntesis de glicósidos cianogénéticos sean más específicas con el sustrato o a que la linamarina sea sintetizada por una ruta distinta a la seguida en otras especies, donde los caminos biosintéticos de linamarina y lotaustralina son similares o idénticos, involucrando valina en un caso e isoleucina en el otro. (Butler, 1965).

La linamarina, además de estar presente en la semilla de Hevea brasiliensis, está presente en la yuca, en los frijoles lima, y en algunas especies de los géneros Linum y Lotus; también se conoce la linamarina, con el nombre de linamarina o faseolunatina o linamarósido (Butler, 1965; Montgomery, 1964; Bourdoux et al, 1980).

La linamarina se aisló por primera vez en 1903, del frijol lima o Phaseolus lunatus, en investigaciones hechas por Dunstan y Henry. La linamarina es un compuesto blanco cristalino, con punto de fusión corregido de 138-140 °C. Su peso molecular es 247; se puede hidrolizar enzimáticamente, pero no con ácido diluído caliente. (Wood, 1966).

D. Hevea brasiliensis en Guatemala

Hevea brasiliensis se empezó a cultivar en Guatemala, en proporciones considerables, en la década de 1940, cuando los Estados Unidos de América se interesaron en que la América tropical les abasteciera de hule natural, ya que el abastecimiento de este producto desde el Lejano Oriente se imposibilitó con la guerra. (Banco de Guatemala, 1978).

Con la colaboración estadounidense se establecieron almácigos, se distribuyeron plantas entre los agricultores interesados y se establecieron estaciones experimentales. En 1958 ya había 24 fincas dedicadas al cultivo del hule, con un total de 9,369 árboles en explotación. El gobierno inició en 1960 un programa de fomento del cultivo del hule. (Banco de Guatemala, 1978).

En 1980 eran 150 las fincas dedicadas al cultivo del hule, 120 en la zona sur-occidental del país y 30 en la zona norte, con un total de unos 4.5 millones de árboles en pie y unos 2.7 millones de árboles en explotación de su látex, (Bourdet, 1984).

Los departamentos mayores productores de hule, son Suchitepéquez, Retalhuleu y Quezaltenango, siendo las regiones del país adecuadas para el cultivo de Hevea brasiliensis, las de la zona costera del Pacífico comprendidas entre los 600 y los 2000 pies SNM y en la zona costera del Atlántico, las comprendidas entre los 0 y 2000 pies SNM y ciertas regiones selváticas húmedas de Huehuetenango, Quiché y Alta Verapaz. (Ovalle, 1975).

La florescencia de Hevea brasiliensis en Guatemala, sucede en la época entre la 2a. quincena de enero y el mes de abril; la semilla cae del árbol en la época entre la 2a. quincena del mes de julio y el mes de octubre, siendo la época más adecuada para recogerla, aquella entre los meses de agosto y septiembre. (Ovalle, 1975).

Un árbol de Hevea brasiliensis produce entre 2000 y 2500 semillas por temporada (Fetuga et al, 1977), dependiendo de la variedad o clon al que pertenezca, y se mantiene en producción por más de 30 años. Si en 1980 había en Guatemala 2.7 millones de árboles en explotación de látex y los tomamos sólo a ellos como principales productores de semilla y estimamos que cada uno produjo 2000 semillas en promedio, resulta que en 1980 en Guatemala se produjeron 5,400 millones de semillas, lo que equivale a 21.6 millones de Kg. o 21,600 toneladas métricas de semilla fresca, tomando como peso promedio por semilla entera fresca, 4 g; y a 10.8 millones de kg. o 10,800 toneladas métricas de almendra de semilla fresca, tomando como peso promedio por almendra, 2g.

Se puede decir que el cultivo de Hevea brasiliensis en Guatemala ha ido aumentando considerablemente con los años y puesto que la demanda de hule natural en el mercado internacional aumenta constantemente (Banco de Guatemala, 1978), se espera que el cultivo siga aumentando y con ello la producción de semilla.

III. OBJETIVOS

Los objetivos de este estudio químico y nutricional de la almendra de hule Hevea brasiliensis, son los siguientes:

- A. Determinar la composición química de la almendra, incluyendo humedad, cenizas, extracto etéreo, proteína cruda, fibra cruda, fósforo, calcio, hierro, cianuro total y cianuro libre.
- B. Determinar el efecto del remojo, la cocción y la extracción de aceite con solventes, en el contenido de cianuro total y cianuro libre en la almendra. Para esto, someter pequeñas cantidades de un mismo lote de almendra a distintos tiempos de remojo, distintos tiempos de cocción, un tiempo de remojo y distintos tiempos de cocción y un tiempo de cocción y distintos tiempos de extracción con hexano.
- C. Preparar harinas de almendra con distintos tratamientos, determinar su composición química y evaluar su valor alimenticio por medios biológicos. Para esto:
 1. Preparar harinas de
 - a. almendra cruda;
 - b. almendra remojada por un tiempo tal, que reduzca en un alto porcentaje el contenido de cianuro;
 - c. almendra cocida por un tiempo tal, que reduzca en un alto porcentaje el contenido de cianuro;
 - d. almendra remojada y cocida por tiempos iguales a los utilizados para las harinas indicadas en los incisos b. y c. anteriores;

- e. almendra cocida y extraída con hexano, con un tiempo de cocción igual al señalado en los incisos c. y d. anteriores y con un tiempo de extracción tal, que reduzca el contenido de extracto etéreo a un nivel de 5-10 g. por cada 100 g. de harina.
2. Determinar la composición química de las harinas preparadas según lo indicado en el inciso 1. anterior, incluyendo determinación de humedad, extracto etéreo, proteína cruda, cianuro total y cianuro libre.
 3. Determinar el valor calórico de la harina de almendra cruda.
 4. Determinar el contenido de aminoácidos en la harina de almendra cocida-extraída preparada.
 5. Determinar el valor alimenticio de las harinas preparadas. Para esto:
 - a. Trabajar con ratas, como animales experimentales y utilizar la metodología de determinación del índice de eficiencia proteínica, PER, y de la razón proteínica neta, NPR, para estudiar la relación entre crecimiento, mantenimiento y consumo de proteína, afectados por la calidad de la proteína y el contenido de un factor tóxico en las dietas.
 - b. Determinar, en las dietas preparadas para la evaluación biológica, humedad, proteína cruda y valor calórico. Calcular el contenido de cianuro total y cianuro libre en estas dietas, en base al contenido de éstos en las harinas utilizadas.

- c. Continuar la observación de crecimiento de los animales y de consumo de alimento hasta por unas ocho semanas, para determinar si se produce mortalidad y otros efectos que se puedan deber al factor tóxico presente en las dietas.



IV. IMPORTANCIA Y JUSTIFICACION

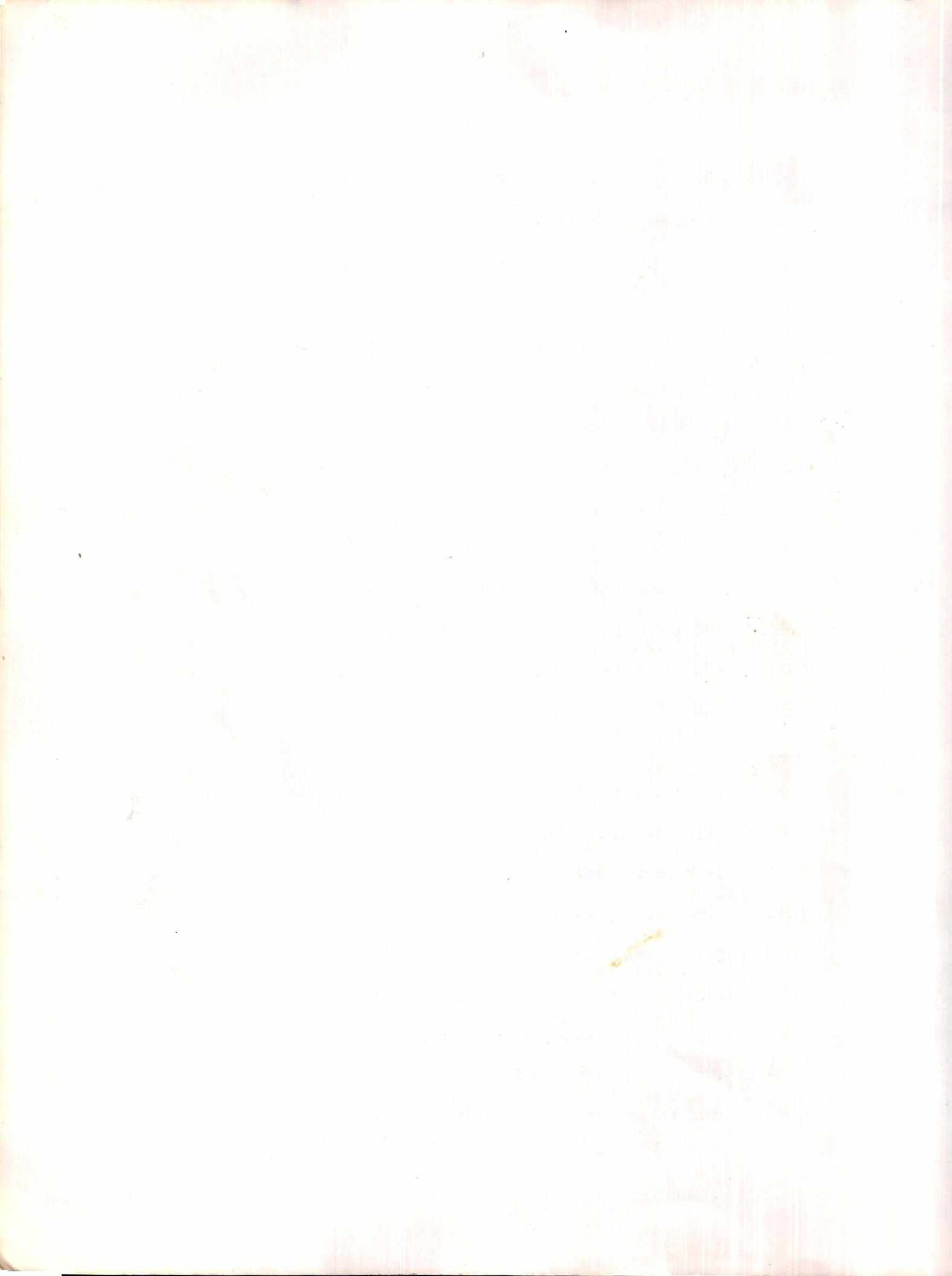
Según indican los antecedentes, la semilla de Hevea brasiliensis y subproductos de ella, como la almendra desgrasada, pueden ser componentes adecuados para la dieta de animales y tal vez también para la dieta de seres humanos.

En Guatemala se produce actualmente gran cantidad de semilla de Hevea brasiliensis, la mayor parte de la cual se desperdicia y por otro lado, está bastante extendida la avicultura y la crianza de ganado vacuno y es importante que se pueda alimentar a esos animales con productos y subproductos locales. Por lo anterior, sería importante poder aprovechar en el país la semilla de Hevea brasiliensis para alimentar aves y ganado.

Antes de realizar pruebas de alimentación con aves y ganado, es necesario hacer investigación en el laboratorio, para determinar la composición química de la semilla, estudiar métodos de destoxificación y determinar su valor nutritivo en animales experimentales pequeños, como ratas.

Si las pruebas químicas y la evaluación nutricional en animales indicara alta calidad nutritiva y ausencia de toxicidad en almendra de semilla de hule tratada, también se podría pensar en utilizarla como fuente alimenticia para seres humanos.

Aunque ya se han hecho algunos estudios sobre composición química y valor nutritivo de almendra de semilla de hule y derivados, en varios países, incluyendo Guatemala, es necesario investigar aún más el tema, pues se encuentran algunas contradicciones en la literatura y hay muchos aspectos importantes que no se han estudiado.



V. METODOS Y MATERIALES

A. Para determinar la composición química y el valor nutritivo de la almendra de semilla de hule Hevea brasiliensis, según lo indicado en los objetivos, se utilizaron los siguientes métodos para las distintas determinaciones:

1. Análisis de humedad en almendras, harinas y dietas:

Método 27.005, Humedad en almendras de semillas y productos derivados, Primera Acción Oficial, AOAC. (AOAC, 1980).

Se llevó el material a masa constante, en horno con corriente de aire a 60°C. La pérdida de peso se informó como contenido de humedad.

2. Análisis de cenizas en almendra:

Método Ba 5-49, Cenizas en harinas de semillas de oleaginosas, Método Oficial, AOCS. (AOCS, 1973).

Se determinó como contenido de cenizas el residuo resultante de la calcinación del material.

3. Análisis de extracto etéreo en almendra y harinas:

Método 27.006b, Grasa cruda en almendras de semillas y productos derivados, Primera Acción Oficial, AOAC. (AOAC, 1980).

Se extrajo el material seco con éter de petróleo, durante 16 horas de reflujo en un aparato Soxhlet. Se secó el material y la pérdida de peso, debida a la extracción, se informó como contenido de extracto etéreo.

4. Análisis de proteína cruda en almendra, harinas y dietas:

Método Aa 5-38, Nitrógeno protéico y amoniacal en semillas de oleaginosas, Método Oficial, AOCS. (AOCS, 1973).

Se determinó el contenido de nitrógeno por el método modificado de Kjeldahl; digestión con ácido sulfúrico concentrado, en presencia de óxido de mercurio II y sulfato de sodio anhidro, seguido de destilación de la mezcla alcalinizada, en presencia de sulfuro de sodio. La recolección del destilado se hizo en ácido sulfúrico diluido valorado y la mezcla fue titulada con hidróxido de sodio diluido valorado. El contenido de proteína se determinó multiplicando el contenido de nitrógeno encontrado por el factor 6,25.

5. Análisis de fibra cruda en almendra;

Método Ba 6-61, Fibra cruda en semillas, harinas y cualquier material al cual se el pueda extraer la grasa, Método Oficial, AOCS. (AOCS, 1973).

Se determinó como contenido de fibra cruda, la pérdida de peso al calcinar el residuo seco resultante de la digestión de la muestra con ácido sulfúrico diluido e hidróxido de sodio diluido. Previo a la digestión, el material se extrajo con éter de petróleo por 16 horas.

6. Análisis de hierro y calcio en almendra;

Método 7.077-7.081, Determinación de minerales en alimentos, por espectrofotometría de absorción atómica, Acción Oficial Final, AOAC. (AOAC, 1975).

Las determinaciones fueron hechas según el método anterior y las especificaciones del espectrofotómetro Perkin-Elmer utilizado. Las soluciones patrón fueron preparadas con carbonato de calcio y con cloruro de hierro II tetrahidratado, en los respectivos casos. Las soluciones del material a analizar fueron

preparadas disolviendo las cenizas del material con ácido clorhídrico 3 N y diluyendo con agua desionizada hasta un volumen conocido. En la determinación de calcio, se utilizó óxido de lantano en las soluciones patrón y la solución problema. Las curvas de calibración utilizadas aparecen en el Apéndice B.

7. Análisis de fósforo en almendra:

Método 2.019-2.025a, Determinación de fósforo total en alimentos por espectrofotometría del molibdovanadofosfato, Acción Oficial Final, AOAC. (AOAC, 1975).

Se determinó el contenido de fósforo partiendo de las mismas soluciones utilizadas en la determinación de hierro en almendra. Las soluciones patrón fueron preparadas con fosfato diácido de potasio; la determinación se hizo según el método indicado de espectrofotometría visible y las especificaciones del espectrofotómetro Turner utilizado. La curva de calibración utilizada aparece en el Apéndice B.

8. Análisis de cianuro libre y cianuro total en almendras y harinas:

Método de extracción de cianuro libre y enlazado y cuantificación por la reacción modificada de Cloramina-T, piridina y pirazolona, según Cooke. (Cooke, 1978).

Se hizo la extracción del cianuro libre y los glicósidos cianogénicos presentes en la muestra; a una alícuota del extracto se le agregó linamarasa obtenida de yuca para hidrolizar los glicósidos cianogénicos y determinar cianuro total y en otra alícuota se determinó cianuro libre. La cuantificación de cianuro, en los dos casos, se hizo por espectrofotometría visible.

La curva de calibración utilizada y todo el procedimiento seguido aparecen en el Apéndice A.

9. Análisis de aminoácidos en harina de almendra cocida-extraída; Método del aparato Technicon Sequential Multisample Aminoacid Analyzer.

El método consiste en someter el material a hidrólisis ácida, al vacío, a una temperatura de 140 °C por 16 horas, luego separar los aminoácidos por cromatografía de intercambio iónico, hacerlos reaccionar con ninhidrina y detectarlos por espectrofotometría visible. Este análisis fue hecho por la División de Ciencias Agrícolas y de Alimentos del Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá, en material preparado en el presente trabajo.

10. Análisis de lisina disponible en harinas;

Método de reacción con 1-fluoro-2,4-dinitrobenceno. (Carpenter, 1960).

Método espectrofotométrico en que se cuantifica la dinitrofenil-lisina formada al reaccionar la lisina disponible con el fluoro-dinitrobenceno. Determina el contenido de lisina, disponible para el anabolismo de proteínas, en el caso que el material fuera ingerido como alimento. Este análisis fue hecho por la División de Ciencias Agrícolas y de Alimentos del Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá, en las harinas preparadas en este estudio.

11. Análisis de valor calórico de harinas y dietas;

Método de la Bomba Calorimétrica Gallenkamp.

Se trabajó según el método anterior, utilizando una curva de calibración hecha con ácido benzoico de valor certificado, según se indica en el Apéndice B.

12. Determinación del efecto del remojo, la cocción y la extracción de aceite con hexano en el contenido de cianuro en la almendra;

Método y procedimiento indicado en el Apéndice C.

13. Preparación de distintas harinas de almendra;

Método y procedimiento indicado en el Apéndice D.

14. Determinación del índice de eficiencia proteínica, PER;

Método según Pellet y Young. (Pellet and Young, 1980).

Se siguió el método anterior con las diferencias especificadas en el Apéndice E.

15. Determinación de la razón proteínica neta, NPR;

Método según Pellet y Young. (Pellet and Young, 1980).

Se siguió el método anterior con las diferencias especificadas en el Apéndice E.

B. El material utilizado para realizar las pruebas necesarias, de acuerdo con los métodos anteriormente indicados, fue el siguiente, además de cristalería y material común de laboratorio de análisis químico:

1. Semilla de hule Hevea brasiliensis proveniente de:

a. Finca Clavellinas, Muluá, Retalhuleu, Guatemala; semilla recolectada en agosto de 1980 y almacenada en cuarto frío a una temperatura de 6-12 °C por un año.

b. Finca Luisiana, Patulul, Suchitepéquez, Guatemala; semilla recolectada en septiembre y octubre de 1981 y almacenada en cuarto frío a una temperatura de 6-12 °C por uno o dos meses.

c. Finca María de Lourdes, Génova, Quezaltenango, Guatemala; semilla recolectada en noviembre de 1981 y guardada en refrigeración a 6 °C por un mes.

2. Cáscara de raíz de yuca fresca, adquirida en un mercado local.
3. Lote de 88 ratas raza Wistar, 44 machos y 44 hembras, de 21-23 días de edad, de la colonia de animales de experimentación del Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá.
4. Solventes;
éter de petróleo y n-hexano grado analítico; hexano grado industrial; etanol 95° grado médico; agua desionizada y agua corriente.
5. Reactivos grado analítico:
cinc en granallas, ácido clorhídrico al 37%, ácido nítrico diluido, ácido sulfúrico al 95-97%, ácido ortofosfórico al 85%, ácido perclórico al 70%, hidróxido de sodio, óxido de mercurio II, óxido de lantano, cianuro de potasio, sulfuro de sodio, sulfato de sodio anhidro, carbonato de sodio, carbonato de calcio, cloruro de hierro II tetrahidratado, molibdato de amonio tetrahidratado, metavanadato de amonio, fosfato di-ácido de potasio, sulfato de amonio, ácido acético glacial, piridina, linamarina (Calbiochem, Cal, EUA), Cloramina-T, bispirazolona ((3,3'-dimetil-1,1'-difenil-(4,4'-bi-2-pirazolina)-5,5'-diona)), 3-metil-1-fenil-5-pirazolona y ácido benzoico de valor calórico certificado.
6. Ingredientes de las dietas utilizadas en la evaluación biológica:
Caseína libre de proteínas, mezcla de minerales Hegsted y aceite de hígado de bacalao (ICN Pharmaceuticals, EUA.); almidón de maíz (ALISA, Honduras); aceite de algodón (Olmecca, S.A., Guatemala); solución de vitaminas.

7. Balanzas:
 - balanza Ohaus Cent-o-gram, Cap. max. 311 g., div. 0.01 g.;
 - balanza Toledo Scale 3111, Cap. max. 250 g., div. 1.0 g.;
 - balanza Toledo Scale de doble plato y escala 500 g., div. 1.0 g.;
 - balanza analítica Mettler H80, Cap. max. 160 g., div. 0.0001 g.
8. Hornos con corriente de aire y temperatura controlada:
 - Blue M Stabil Therm Constant Temperature Cabinet with Power-o-Matic 70; horno de bandejas con llama de aire-propano, diseño de Ing. P. Suárez, Guatemala.
9. Desecadoras:
 - con sulfato de sodio anhidro y con ácido sulfúrico concentrado.
10. Cuarto frío, refrigerador y congelador:
 - Cuarto frío con temperatura 6-12 °C; refrigerador Lab-Line frigid-cab, Lab-Line Instruments, Inc.; congelador Frigidaire.
11. Estufas de plancha:
 - Corning PC-35 Hot Plate.
12. Mufla con temperatura controlada:
 - Thermolyne 10500 Furnace.
13. Marmita para cocción de alimentos:
 - Lee Metal Products Co. Division of Jonathan Manufacturing Company. Internal Jacket 90 psi and 350 °F. Cap. max. 152 litres.
14. Baño de temperatura controlada:
 - Haake FK2, 0-100 °C.
15. Camisa eléctrica para calentamiento de balón de 5000 ml. y transformador de corriente necesario:
 - Glas-Col Heating Mantle, Glas-Col Apparatus Co.; variable auto-transformer, Staco Incorporated.

16. Licuadora:
Waring Commercial Blender.
17. Agitadora de tubos de ensayo:
Lab-Line Super-mixer Touch Plate, Arthur H. Thomas Co.
18. Molino, quebrantador:
Desintegrador, picador e molidor de forragens, Nogueira DPM 2.
19. Aparatos de extracción Soxhlet:
Corning Laboratory Glassware con balón de 500 ml. y con balón de 5000 ml.
20. Aparato para destilación y concentración:
Rotavapor-R Büchi, Brinkmann Instruments, con baño Thermo-Lift, Buchler Instruments.
21. Aparato digestor para determinación de fibra cruda:
Corning Organic Chemistry Kit.
22. Aparatos Kjeldahl para digestión y destilación:
GCA Precision Scientific Apparatus.
23. Bomba calorimétrica:
Gallenkamp Pallistic Bomb Calorimeter.
24. Centrífugas:
IEC HN-S Centrifuge, Damon/IEC Division; IEC B-20A Centrifuge, Damon/IEC Division, con refrigeración.
25. Ultracentrífuga con refrigeración:
Beckman L2-65 Ultracentrifuge.
26. Potenciómetro:
Fisher Accumet 230A pH/ion meter.

27. Espectrofotómetro de luz visible:
Turner Spectrophotometer 350, con filtro 400-680 nm., slit 5 nm.
y de un solo haz.
28. Espectrofotómetro de absorción atómica y lámparas de emisión
de calcio y hierro:
Perkin-Elmer Atomic Absorption Spectrophotometer 305 B; Perkin-
Elmer Hollow Cathode emission lamps.
29. Membrana de diálisis:
Rubber Bulb, 1 cc., Fisher Scientific Co.
30. Papel celofán de bajo contenido de nitrógeno.
31. Papel filtro para determinación de fibra cruda.
32. Asbesto lavado con ácido, para determinación de fibra cruda.



VI. RESULTADOS

En este estudio se utilizó semilla de hule recolectada en 1980, almacenada a una temperatura de 6-12 °C por un año y semilla de hule recolectada en 1981, almacenada a la misma temperatura mencionada por uno o dos meses. La semilla recolectada en 1980, almacenada por un año, tenía un peso promedio de 3.4 g. y la almendra de esta semilla, un peso promedio de 2.0 g. y un contenido de humedad de 11.8 g. en 100 g. La semilla fresca, recolectada en 1981, tenía una almendra con una humedad promedio de 33.9 g. en 100 g.

A. Composición química de la almendra de semilla de hule.

De acuerdo con los resultados presentados en el Cuadro 1, la almendra de hule tiene un contenido de 48.0 g. de extracto etéreo en 100 g. de almendra seca y un contenido de 18.5 g. de proteína cruda en 100 g. de almendra seca. Este cuadro indica también el contenido de cenizas, fibra cruda, carbohidratos digeribles, determinados por diferencia, fósforo, calcio y hierro en la almendra en base húmeda y en base seca.

Los resultados del contenido de cianuro total, enlazado y libre en la almendra fresca aparecen en el Cuadro 2. El valor promedio para los distintos clones de Hevea brasiliensis analizados es de 155.6 mg. de cianuro total en 100 g. de almendra fresca, de los cuales 146.6 mg. son de cianuro enlazado y constituyen el 94% del total y 9.0 mg. son de cianuro libre y constituyen el 6% del total.

CUADRO 1
 COMPOSICION QUIMICA DE LA ALMENDRA DE HULE Hevea brasiliensis
 a,b

	Base húmeda g/100g	Base seca g/100g
Humedad	11.8 ± 0.1	
Cenizas	2.97 ± 0.03	3.37 ± 0.03
Extracto etéreo	42.3 ± 0.4	48.0 ± 0.5
Proteína cruda _d	16.3 ± 0.9	18.5 ± 1.0
Fibra cruda	4.8 ± 0.4	5.4 ± 0.4
Carbohidratos digeribles _c	21.83 ± 1.1	24.73 ± 1.2
	mg/100g	mg/100g
Fósforo	379 ± 21	429 ± 23
Calcio	96 ± 3	109 ± 3
Hierro	5.4 ± 0.1	6.2 ± 0.1

a Almendra de semilla recolectada en 1980, Finca Clavellinas, Muluá, Retalhuleu, Guatemala.

b Incertidumbres estimadas por propagación de error.

c Cálculo por diferencia del 100%.

d N x 6.25

CUADRO 2
 CONTENIDO DE CIANURO EN ALMENDRA FRESCA DE SEMILLA DE DISTINTOS CLONES DE HULE
Hevea brasiliensis. a, b

Clon/Procedencia ^c	Cianuro (CN ⁻) mg/100g ^e						Humedad g/100g ^e
	Total		Enlazado ^d		Libre		
	Base húmeda	Base seca	Base húmeda	Base seca	Base húmeda	Base seca	
RRIM 513 L	121.4 ± 16.0	212.2 ± 28.0 ^{i,ii}	114.7 ± 16.0	200.5 ± 28.0	6.7 ± 0.6	11.7 ± 1.0 ^{i,ii}	42.8 ± 0.2
RRIM 600 L	136.1 ± 19.8	208.4 ± 30.3 ⁱⁱ	130.0 ± 19.8	199.1 ± 30.3	6.1 ± 1.1	9.3 ± 1.7 ⁱ	34.7 ± 0.1
RRIM 614 L	167.9 ± 22.7	253.6 ± 34.3 ⁱⁱ	156.5 ± 22.7	236.4 ± 34.3	11.4 ± 1.3	17.2 ± 2.0 ^{iv}	33.8 ± 0.1
PB-86 (GV-17) L	124.9 ± 15.5	187.8 ± 23.3 ⁱ	113.0 ± 15.6	169.9 ± 23.5	11.9 ± 1.6	17.9 ± 2.4 ^{iv}	33.5 ± 0.1
PB-86 (GV-17) ML	137.1 ± 13.5	182.1 ± 17.9 ⁱ	126.1 ± 13.7	167.5 ± 18.2	11.0 ± 2.1	14.6 ± 2.8 ^{ii,iii,iv}	24.7 ± 0.1
TJIR-1 (GV-31) L	227.3 ± 25.9	353.5 ± 40.3 ⁱⁱⁱ	216.6 ± 25.9	336.9 ± 40.3	10.7 ± 1.2	16.6 ± 1.9 ^{ii,iv}	35.7 ± 0.1
AV-308 (GA-308) L	181.3 ± 43.7	299.2 ± 72.1 ⁱⁱ	174.7 ± 43.7	288.3 ± 72.1	6.6 ± 0.5	10.9 ± 0.8 ^{i,ii}	39.4 ± 0.1
AV-308 (GA-308) ML	144.0 ± 11.5	199.4 ± 15.9 ⁱ	134.7 ± 11.6	186.5 ± 16.1	9.3 ± 1.1	12.9 ± 1.5 ^{i,ii,iii}	27.8 ± 0.1
GX-26 ML	160.6 ± 12.6	239.0 ± 18.8 ⁱⁱ	153.0 ± 12.7	227.7 ± 18.9	7.6 ± 0.9	11.3 ± 1.3 ⁱⁱ	32.8 ± 0.1
Promedio (Desv. estándar)	155.6 (33.4)	237.2 (57.0)	146.6 (33.2)	223.6 (56.7)	9.0 (2.3)	13.6 (3.1)	33.9 (5.4)

a Determinación hecha por el método de Cooke. (Cooke, 1978).

b Almendra de semilla recolectada un mes antes de la determinación, guardada en refrigeración.

c L = Finca Luisiana, Patulul, Suchitepéquez, Guatemala. ML = Finca María del Lourdes, Génova, Quezaltenango, Guatemala.

d Calculado por diferencia del cianuro total y el cianuro libre.

e Incertidumbres estimadas por propagación de error.

i, ii, ... Diferencia no significativa ($p > 0.05$) entre los valores con el mismo subíndice; en este caso, contenido de cianuro, las diferencias indicadas deben de tomarse con cautela (ver Apéndice G).

B. Efecto del remojo en el contenido de cianuro en la almendra de hule.

El remojar en agua la almendra de hule fraccionada causa una disminución marcada en el contenido de cianuro, según lo indicado en el Cuadro 3 y en la Gráfica 1.

La disminución en el contenido de cianuro total se debe tanto a disminución del contenido de cianuro enlazado como a disminución del contenido de cianuro libre.

Hay una tendencia del contenido de cianuro enlazado a disminuir con mayor velocidad en las primeras horas de remojo para luego mantenerse casi constante. El contenido de cianuro libre disminuye más lentamente, pero al cabo de veinticinco horas ha disminuído casi tanto, en porcentaje, como lo que ha disminuído el contenido de cianuro enlazado.

Al cabo de veinticinco horas de remojo, el contenido de cianuro total baja a un 17% del contenido original en la almendra sin ningún tratamiento; el cianuro enlazado baja a un 16% y el libre a un 24%.

En la almendra sin ningún tratamiento, la razón de porcentajes respecto al cianuro total, de cianuro enlazado a cianuro libre es de 92/8 y en la almendra remojada por veinticinco horas es de 89/11.

C. Efecto de la cocción en el contenido de cianuro en la almendra de hule.

Según se indica en el Cuadro 4 y en la Gráfica 2, el cocinar en agua hirviendo la almendra fraccionada causa una marcada disminución en su contenido de cianuro, especialmente en cuanto al cianuro libre se refiere.

El contenido de cianuro libre prácticamente no disminuye al aumentar el tiempo de cocción de media a una hora; a diferencia

de esto, el contenido de cianuro enlazado sí disminuye al aumentar el tiempo de cocción.

Después de una hora de cocción, el contenido de cianuro total ha bajado a un 49% del contenido en la almendra sin ningún tratamiento; el contenido de cianuro enlazado a un 53% y el de cianuro libre a cerca de un 7%; también puede observarse que la razón de porcentajes, respecto al contenido de cianuro total, de cianuro enlazado a cianuro libre, es después de este tratamiento, de 99/1.

- D. Efecto del remojo y la cocción en el contenido de cianuro en la almendra de hule.

El someter la almendra fraccionada a remojo y luego a cocción, causa una disminución marcada de su contenido de cianuro, según está indicado en el Cuadro 5 y en la Gráfica 3.

La disminución del contenido de cianuro total se debe a disminuciones semejantes, en porcentaje, en el contenido de cianuro enlazado y en el contenido de cianuro libre.

Después de veinte horas de remojo y una hora de cocción, el contenido de cianuro total disminuye a un 4% del contenido de la almendra sin ningún tratamiento, el contenido de cianuro enlazado a un 5% y el contenido de cianuro libre a un 4%. La razón de porcentajes, respecto al contenido de cianuro total, de cianuro enlazado a cianuro libre, es de 93/7, después del mencionado tratamiento.

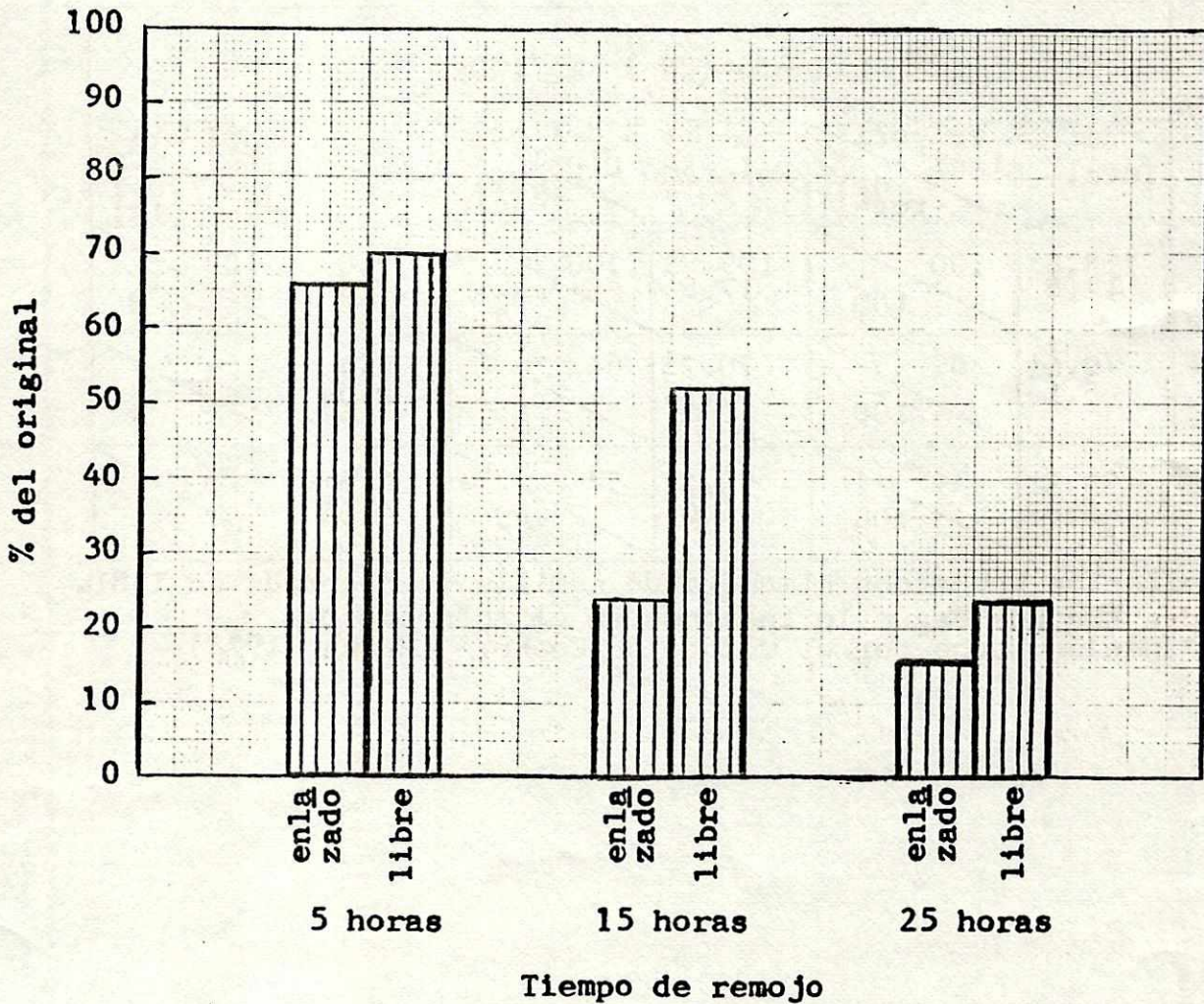
El contenido de cianuro libre prácticamente no disminuye al aumentar el tiempo de cocción de media a una hora, mientras que el contenido de cianuro enlazado sí disminuye.

CUADRO 3
CONTENIDO DE CIANURO EN ALMENDRA DE HULE *Hevea brasiliensis*,
DESPUÉS DE SOMETERLA A DISTINTOS TIEMPOS DE REMOJO. a,b

Tiempo de remojo horas	Cianuro (CN ⁻) mg/100g c								
	Total	% del original d	% del total e	Enlazado	% del original d	% del total e	Libre	% del original d	% del total e
0	118.8± 12.8	100	100	109.8± 12.9	100	92	9.0± 1.6	100	8
5	78.8± 7.4	66	100	72.5± 7.5	66	92	6.3± 1.1	70	8
9	36.0± 4.7	30	100	28.4± 4.8	26	79	7.6± 1.1	84	21
15	31.4± 4.2	26	100	26.8± 4.3	24	85	4.6± 0.6	51	15
20	31.5± 2.9	26	100	28.6± 2.9	26	91	2.9± 0.3	32	9
25	20.1± 2.5	17	100	17.9± 2.5	16	89	2.2± 0.2	24	11

- a Determinación hecha con almendra de semilla recolectada en 1981.
 b Almendra tratada según lo indicado en el Apéndice C.
 c Determinación hecha por el método de Cooke. (Cooke, 1978).
 d % del original; se refiere al % del contenido, en la almendra sin ningún tratamiento.
 e % del total; se refiere a qué %, del contenido de cianuro total, corresponde el contenido indicado.

Gráfica 1. Cianuro enlazado y cianuro libre, remanente en la almendra de hule, después de distintos tiempos de remojo, presentado como porcentaje del contenido en la almendra sin ningún tratamiento.



CUADRO 4
 CONTENIDO DE CIANURO EN ALMENDRA DE HULE, DESPUÉS DE SOMETERLA
 A TRATAMIENTO DE DISTINTOS TIEMPOS, DE COCCION. a, b

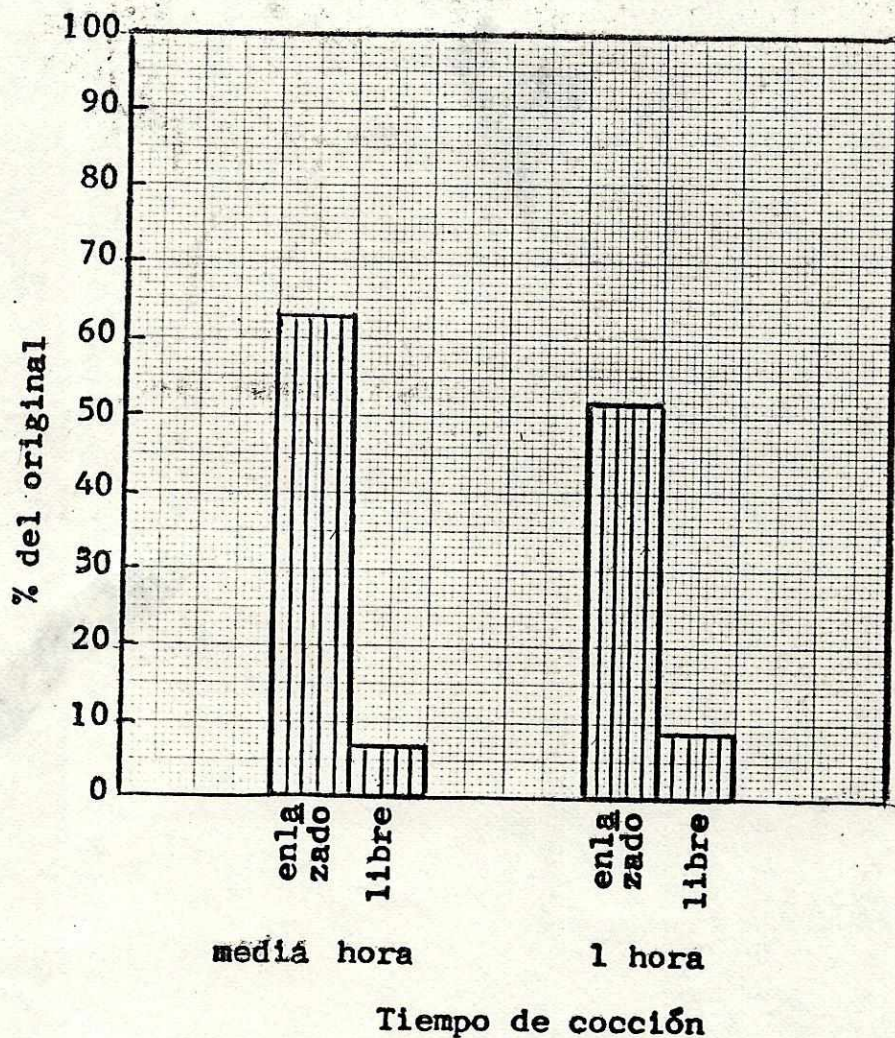
Tiempo de cocción horas	Cianuro (CN ⁻) mg/100g ^c					
	Total	% del original del total	Enlazado	% del original del total	Libre	% del original del total
0	118.8± 12.8	100 100	109.8± 12.9	100 92	9.0 ± 1.6	100 8
0.5	70.6± 5.1	59 100	70.2± 5.1	64 99	0.4 ± 0.04	4 1
1.0	58.8± 6.0	49 100	58.2± 6.0	53 99	0.6 ± 0.05	7 1

a Determinación hecha con almendra de semilla recolectada en 1981.

b. Almendra tratada según lo indicado en el Apéndice C.

c Determinación hecha por el método de Cooke. (Cooke, 1978).

Gráfica 2. Cianuro enlazado y cianuro libre, remanente en la almendra de hule, después de distintos tiempos de cocción; presentado como porcentaje del contenido en la almendra sin ningún tratamiento.



CUADRO 5
CONTENIDO DE CIANURO EN ALMENDRA DE HULE, DESPUÉS DE VEINTE HORAS
DE REMOJO Y DISTINTOS TIEMPOS DE COCCION. a,b

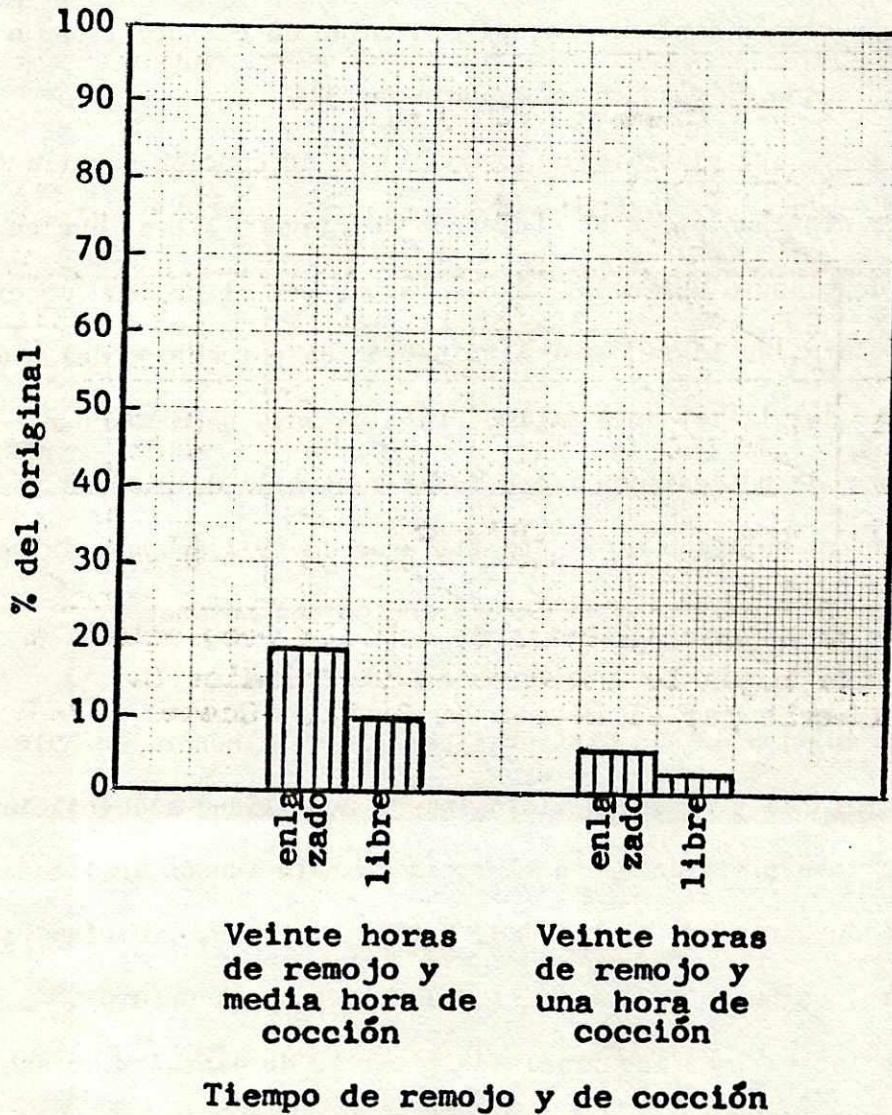
Tiempo de cocción Horas	Cianuro (CN ⁻) mg/100g ^c								
	Total	% del original	% del original del total	Enlazado	% del original	% del original del total	Libre	% del original	% del original del total
0	31.5 ± 2.9	27	100	28.6 ± 2.9	26	91	2.9 ± 0.3	32	9
0.5	21.7 ± 2.1	18	100	20.8 ± 2.1	19	96	0.9 ± 0.08	10	4
1.0	5.4 ± 0.6	4	100	5.0 ± 0.6	5	93	0.4 ± 0.07	4	7

a Determinación hecha con almendra de semilla recolectada en 1981.

b Almendra tratada según lo indicado en el Apéndice C.

c Determinación hecha por el método de Cooke. (Cooke, 1978).

Gráfica 3. Cianuro enlazado y cianuro libre, remanente en la almendra de hule, después de veinte horas de remojo y distintos tiempos de cocción; presentado como porcentaje del contenido en la almendra sin ningún tratamiento.



- E. Efecto de la cocción y la extracción del aceite con hexano en el contenido de cianuro en la almendra de hule.

En el Cuadro 6 se observa que el someter la almendra fraccionada a media hora de cocción y luego a cuatro horas de extracción con hexano, causa una marcada disminución de su contenido de cianuro. El contenido de cianuro total disminuyó a un 29% del contenido en la almendra sin ningún tratamiento, el contenido de cianuro libre a un 3% y el contenido de cianuro enlazado a un 32%.

Se observa que el tratamiento combinado de cocción y extracción causa mayor disminución en el contenido de cianuro libre que en el contenido de cianuro enlazado. Sin embargo, por el proceso de extracción, únicamente, se logra mayor disminución en porcentaje del cianuro enlazado que del libre; este último prácticamente no disminuye.

La razón de porcentajes respecto al contenido de cianuro total, de cianuro enlazado a cianuro libre es de 99/1 después de media hora de cocción y cuatro horas de extracción con hexano.

- F. Composición química de las distintas harinas de almendra de hule preparadas para la evaluación biológica de su calidad alimenticia.

Las harinas preparadas con almendra de hule fueron analizadas en cuanto a su contenido de humedad, extracto etereo, proteína cruda y cianuro, según se indica en el Cuadro 7 y en el Cuadro 8.

Una de las harinas fue preparada a partir de almendra de semilla recolectada en 1980 y las demás a partir de almendra de semilla recolectada en 1981.

Las harinas de almendra no extraída tienen un contenido promedio de extracto etéreo de 48.5 g. en 100 g. de harina seca y un contenido promedio de proteína cruda de 18,1 g. en 100 g. de harina seca. La harina de almendra extraída tiene un contenido de extracto etéreo de 7.4 g. en 100 g. de harina seca y un contenido de proteína cruda de 33.1 g. en 100 g. de harina seca.

El contenido de cianuro total en la harina preparada con la almendra recolectada en 1980 es mucho menor que el contenido de cianuro total en las harinas preparadas con la almendra recolectada en 1981.

Cianuro (CN ⁻) mg/100g	
1	Comparando los contenidos de cianuro total en base seca, se observa que la harina de almendra cruda y la harina de almendra cocida (1981) tienen el mismo contenido. La harina de almendra remojada y la harina de almendra remojada-cocida tienen el mismo contenido de cianuro total y éste es menor que el de las harinas de almendra
1	cruda y de almendra cocida (1981). Y entre las harinas preparadas con almendra recolectada en 1981, la harina de almendra cocida-

extraída es una de las de menor contenido de cianuro total.

G. Valor calórico de la harina de almendra de hule cruda.

Se determinó que el valor calórico de la harina preparada con almendra cruda es de 682 Kcal por 100 g. de harina, (± 15).

La determinación se hizo con una muestra de la harina de almendra cruda, cuya composición química aparece en el Cuadro 7 y con la cual se preparó una de las dietas utilizadas en la evaluación biológica.

CUADRO 6
CONTENIDO DE CIANURO EN ALMENDRA DE HULE *Hevea brasiliensis*,
DESPUES DE SOMETERLA A TREINTA MINUTOS DE COCCION Y DISTINTOS
TIEMPOS DE EXTRACCION DE ACEITE, CON HEXANO a,b

Tiempo de reflujo horas	Cianuro (CN ⁻) mg/100g c								
	Total	% del original	% del total	Enlazado original	% del original	% del total	Libre	% del original	% del total
0	70.6 ± 5.1	59	100	70.2 ± 5.1	64	99	0.4 ± 0.04	4	1
4	35.0 ± 2.6	29	100	34.7 ± 2.7	32	99	0.3 ± 0.04	3	1

a Determinación hecha con almendra recolectada en 1981.

b. Almendra tratada según lo indicado en el Apéndice C.

c Determinación hecha por el método de Cooke. (Cooke, 1978).

CUADRO 7
COMPOSICION QUIMICA DE LAS DISTINTAS HARINAS DE ALMENDRA DE HULE, PREPARADAS
PARA SU EVALUACION BIOLOGICA. a,b

Harina de almendra:	Año de cosecha de la semilla	Humedad g/100g	Extracto etéreo g/100g		Proteína cruda g/100g	
			Base húmeda	Base seca	Base húmeda	Base seca
Cocida por treinta minutos	1980	3.4 ±	46.9 ±	48.6 ±	19.7 ±	20.4 ±
		0.1	0.5	0.5	1.3	1.4
Cocida por treinta minutos	1981	2.9 ±	46.6 ±	48.0 ±	17.7 ±	18.2 ±
		0.1	0.4	0.5	1.2	1.2
Cocida por treinta minutos-extraída con hexano	1981	2.4 ±	7.2 ±	7.4 ±	32.3 ±	33.1 ±
		0.1	0.7	0.7	1.7	1.8
Remojada por veinte horas	1981	6.2 ±	47.1 ±	50.2 ±	16.3 ±	17.3 ±
		0.1	0.4	0.5	1.0	1.1
Remojada por veinte horas-cocida por treinta minutos	1981	5.0 ±	48.2 ±	50.8 ±	16.7 ±	17.6 ±
		0.1	0.6	0.6	1.1	1.1
Cruda	1981	2.9 ±	43.5 ±	44.8 ±	16.6 ±	17.1 ±
		0.1	0.4	0.4	1.0	1.1

a La semilla cosechada en 1980, se almacenó durante un año a T=6-12 °C; la semilla cosechada en 1981, se almacenó durante uno o dos meses, a la temperatura antes indicada.

b Incertidumbre en los valores, estimada por propagación de error.

CONTENIDO DE CIANURO EN LAS DISTINTAS HARINAS DE ALMENDRA DE HULE, PREPARADAS PARA SU EVALUACION BIOLOGICA. a,b,c

Harina de almendra:	Año de cosecha de la semilla	Cianuro (CN ⁻) mg/100g							
		Total		Enlazado			Libre		
		Base húmeda	Base seca	Base húmeda	Base seca	Base húmeda	Base húmeda	Base seca	
Cocida por treinta minutos	1980	8.0 ± 0.3	8.3 ± 0.3 i	7.2 ± 0.4	7.5 ± 0.4	0.8 ± 0.1	0.8 ± 0.1	0.8 ± 0.1 i	
Cocida por treinta minutos	1981	65.4 ± 6.2	67.4 ± 6.4 iv	64.2 ± 6.2	66.2 ± 6.4	1.2 ± 0.3	1.2 ± 0.3	1.2 ± 0.3 i	
Cocida por treinta minutos-extraíada con hexano	1981	40.5 ± 3.9	41.5 ± 4.0 ü	39.7 ± 3.9	40.7 ± 4.0	0.8 ± 0.2	0.8 ± 0.2	0.8 ± 0.2 i	
Remojada por veinte horas	1981	46.8 ± 6.0	49.9 ± 6.4 ü/üü	37.4 ± 6.1	39.9 ± 6.5	9.4 ± 0.8	10.0 ± 0.9	10.0 ± 0.9 ü	
Remojada por veinte horas-cocida por treinta minutos	1981	52.3 ± 2.4	55.1 ± 2.5 üü	51.2 ± 2.4	53.9 ± 2.5	1.1 ± 0.6	1.1 ± 0.6	1.2 ± 0.6 i	
Cruda	1981	65.3 ± 5.2	67.3 ± 5.4 iv	60.8 ± 5.3	62.7 ± 5.5	4.5 ± 0.9	4.6 ± 0.9	4.6 ± 0.9 ü	

a Se refiere a las mismas harinas que aparecen en el Cuadro 7.

b Determinación hecha por el método de Cooke. (Cooke, 1978).

c Incertidumbres estimadas por propagación de error.

i,ii,... Diferencia no significativa (p>0.05) entre los valores con el mismo subíndice. En este caso, contenido de cianuro, las diferencias indicadas, deben tomarse con cautela (ver Apéndice G).

H. Contenido de aminoácidos en la harina de almendra de hule.

Se determinó el contenido de aminoácidos en la harina de almendra cocida por media hora y extraída con hexano, según se indica en el Cuadro 9. La muestra tenía un contenido de proteína cruda de 33.8 g. en 100 g. de harina; en base a este dato, se calculó para cada aminoácido su contenido por gramo de nitrógeno.

Además se determinó el contenido de lisina disponible en las seis harinas, cuya composición química aparece en el Cuadro 7. Los valores de lisina disponible aparecen en el Cuadro 10; indican la cantidad de lisina que está disponible para el anabolismo de proteínas a la hora que esas harinas sean ingeridas por un animal. El valor promedio de lisina disponible en las harinas de almendra recolectada en 1981 es, respecto al contenido de nitrógeno, de 278 mg. por gramo de nitrógeno; siendo entre ellos el menor, el de la harina cocida-extraída. El valor de lisina disponible de la harina de almendra recolectada en 1980 es más alto que el menor de las harinas de almendra recolectada en 1981, pero menor que el de las demás harinas.

I. Composición química y valor calórico de las dietas utilizadas para evaluar biológicamente la calidad alimenticia de las distintas harinas de almendra de hule.

Con las harinas, cuya composición química y contenido de lisina disponible aparece en el Cuadro 7 y en el Cuadro 10, se prepararon las dietas indicadas en el Cuadro 11 y en el Cuadro 12.

A las dietas preparadas se les determinó su contenido de humedad y proteína cruda y su valor calórico. Además se calculó su contenido de cianuro total, libre y enlazado en base al contenido

de éstos en las harinas y al porcentaje utilizado de cada harina en la preparación de las dietas correspondientes.

El porcentaje promedio de humedad en las dietas fue de 13.0. El contenido promedio de proteína cruda en las dietas con fuente de proteína fue de 9.4 g. en 100 g. de dieta. Las dietas identificadas como 3 y 4 son dietas libres de proteína, según se indica en el Cuadro 11 y en el Cuadro 12.

El valor calórico promedio, de las dietas preparadas con contenido de aceite de algodón y/o aceite de almendra de hule igual a 5 g. en 100 g. de dieta, dietas 1, 3 y 11, es 406 Kcal por 100 g. de dieta. El valor calórico de las dietas con contenido de aceite de algodón y/o aceite de almendra de hule de 24 g. en 100 g. de dieta, dietas 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9 y 10, fue en promedio 506 Kcal por 100 g. de dieta.

Con respecto al contenido de cianuro total en las dietas que contienen harina de almendra de hule, éste fue mucho menor en la dieta de harina de almendra recolectada en 1980, dieta 10, que en las demás dietas.

J. Evaluación biológica del valor alimenticio de las distintas harinas de almendra de hule.

Para cada una de las dietas preparadas según lo indicado en el Cuadro 11, cuya composición química aparece en el Cuadro 12, se hizo una evaluación biológica con ratas, a lo largo de ocho semanas de experimentación. Con los resultados obtenidos hasta la segunda semana de experimentación, se obtuvieron valores de razón proteínica neta, NPR, y con los resultados obtenidos hasta la cuarta semana de experimentación, se obtuvieron valores de índice de eficiencia proteínica, PER.

CUADRO 9
 CONTENIDO DE AMINOACIDOS EN LA HARINA DE ALMENDRA DE
 HULE, COCIDA POR TREINTA MINUTOS Y EXTRAIDA CON
 HEXANO. a,b

Aminoácido	g/100g harina	mg/gN
Lisina	1.408	260
Histidina	0.809	149
Arginina	2.447	452
Acido aspártico	3.310	611
Treonina	0.970	179
Serina	1.202	222
Acido glutámico	4.710	870
Prolina	2.205	407
Glicina	1.130	208
Alanina	1.378	255
Valina	1.928	356
Metionina	1.044	193
Isoleucina	1.469	271
Leucina	1.782	329
Tirosina	1.001	185
Fenilalanina	1.370	253
(Amonio)	(0.288)	(53).

a Determinación hecha por la División de Ciencias Agrícolas y de Alimentos del INCAP, por el método del Technicon TSM System.

b La muestra tiene un contenido de proteína cruda de 33.8 g/100g. Fue preparada en este trabajo, por el mismo procedimiento por el que se preparó la harina cocida-extraída, indicada en los Cuadros 7 y 8, solo que trabajando a pequeña escala.

CUADRO 10
CONTENIDO DE LISINA DISPONIBLE EN LAS DISTINTAS HARINAS
PREPARADAS CON ALMENDRA DE HULE. a,b

Harina de almendra:	g/100g harina	mg/gN
Cocida por treinta minutos (1980)	0.746	237
Cocida por treinta minutos (1981)	0.803	284
Cocida por treinta minutos-extraída (1981)	1.158	224
Remojada por veinte horas (1981)	0.786	301
Remojada por veinte horas-cocida por treinta minutos (1981)	0.784	293
Cruda (1981)	0.765	288

- a Determinación hecha por la División de Ciencias Agrícolas y de Alimentos del INCAP, por el método de Carpenter. (Carpenter, 1960).
- b Se refiere a las mismas harinas indicadas en los Cuadros 7 y 8.

CUADRO 11
 COMPONENTES DE LAS DIETAS PREPARADAS PARA EVALUAR BIOLÓGICAMENTE LA CALIDAD
 ALIMENTICIA DE DISTINTAS HARINAS DE ALMENDRA DE HULE. a

Dieta	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Fuente de proteína ^b	caseína	caseína	ninguna	ninguna	a. cocida	a. cocida extraída	a. re-mojada	a. re-mojada -cocida	a. cruda	a. cocida (1980)	a. cocida extraída
Almidón g/100g	78.7	59.7	90.0	71.0	45.0	38.7	45.0	45.0	43.0	45.0	57.7
Caseína g/100g	11.3	11.3	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Harina de almendra de hule g/100g	-----	-----	-----	-----	50.0	33.3	50.0	50.0	50.0	50.0	33.3
Minerales g/100g c	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0
Aceite de algodón g/100g	5.0	24.0	5.0	24.0	-----	23.0	-----	-----	2.0	-----	4.0
Aceite de bacalao g/100g	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Solución de vitaminas ml/100g c	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0

a Las harinas de almendra de hule utilizadas en la preparación de algunas de las dietas indicadas, corresponden a las presentadas en los Cuadros 7, 8 y 10

b La fuente de proteína es, en algunos casos, caseína y en otros casos, almendra de hule tratada según lo indicado. Hay dos dietas libres de proteína.

c Su composición aparece detallada en el Apéndice E.

COMPOSICION QUIMICA Y VALOR CALORICO DE LAS DIETAS UTILIZADAS EN LA EVALUACION BIOLOGICA DE DISTINTAS HARINAS DE ALMENDRA DE HULE. a,b

Dieta	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Fuente de proteína	caseína	caseína	ninguna	ninguna	a. cocida	a. cocida extraída	a. mojada	a. remojada -cocida	a. cruda	a. cocida (1980)	a. cocida extraída
Humedad g/100g	13.2± 0.3	11.7± 0.3	13.8± 0.4	12.0± 0.3	17.4± 0.3	15.9± 0.3	19.6± 0.3	10.3± 0.3	10.2± 0.2	10.2± 0.2	9.3± 0.4
Proteína cruda g/100g	10.1± 0.6	9.9± 0.6	0.5± 0.7	0.3± 0.7	8.2± 0.7	11.0± 0.7	8.3± 0.7	9.0± 0.6	8.6± 0.7	9.8± 0.6	11.2± 0.7
Valor calórico kcal/100g	420± 13 i,ü,üü	494± 14 ü,üü,iv	388± 13 i	466± 13 i,ü,üü,iv	475± 13 i,ü,üü,iv	505± 14 üü,iv	540± 14 iv	540± 14 iv	515± 14 iv	509± 14 iv	410± 12 i,ü
Cianuro total mg/100g d	-----	-----	-----	-----	32.7± 3.2 iv	13.5± 1.4 ü	23.4± 3.0 üü	26.2± 1.3 üü	32.7± 2.7 iv	4.0± 0.2 i	13.5± 1.4 ü
Cianuro enlazado mg/100g d	-----	-----	-----	-----	32.1± 3.2 i	13.2± 1.4 i	18.7± 3.1 üü	25.6± 1.3 i	30.4± 2.7 ü	3.6± 0.2 i	13.2± 1.4 i
Cianuro libre mg/100g d	-----	-----	-----	-----	0.6± 0.15 i	0.3± 0.07 i	4.7± 0.40 üü	0.6± 0.30 i	2.3± 0.45 ü	0.4± 0.05 i	0.3± 0.07 i

a Las harinas de almendra de hule utilizadas en la preparación de algunas de las dietas indicadas, corresponden a las presentadas en los Cuadros 7,8 y 10.
 b Incertidumbres en los valores, estimadas por propagación de error.
 c La fuente de proteína es en algunos casos caseína y en otros casos almendra de hule tratada según lo indicado. Hay dos dietas libres de proteína.
 d Calculado en base al contenido en la harina de almendra correspondiente y al porcentaje de esta harina en la dieta.
 i,ü,üü...Diferencia no significativa (p>0.05) entre los valores con el mismo subíndice. Para los valores de contenido de cianuro, las diferencias indicadas deben de tomarse con cautela (ver Apéndice G).

1. Valores de índice de eficiencia proteínica, PER, obtenidos para distintas harinas de almendra de hule.

En el Cuadro 13 se presentan los valores promedio de alimento ingerido, cambio de peso y PER de las dietas utilizadas en la evaluación biológica del valor alimenticio de las distintas harinas de almendra de hule.

El cambio de peso en la dieta de harina de almendra cruda, dieta 9, fue negativo; en las otras dietas de harina de almendra de hule el cambio de peso promedio fue positivo.

En la dieta de harina de almendra remojada-cocida, dieta 8, los cálculos se hicieron con los datos de siete ratas, pues la octava rata murió durante la cuarta semana de experimentación; de esas siete ratas, dos registraron cambio de peso negativo.

Para la dieta de almendra cruda no se pudo calcular un valor de PER debido a que, como ya se indicó, el cambio de peso promedio fue negativo. Para las demás dietas sí se calculó el valor de PER correspondiente, habiendo sido el valor más bajo el de la dieta de harina de almendra remojada-cocida.

La dieta de harina de almendra remojada-cocida tiene un valor muy bajo de PER, debido a que el valor promedio de cambio de peso es bajo, por haber habido dos cambios de peso negativos, como se indicó anteriormente. Si se tomaran en cuenta solamente los datos de las ratas en esta dieta, que tuvieron cambio de peso positivo, 5 datos, se tendría un valor de alimento ingerido de 125.4 g., un valor de cambio de peso de 7.2 g. y un valor de PER de 0.62.

CUADRO 13

VALORES DE INDICE DE EFICIENCIA PROTEINICA, PER, Y DATOS RELACIONADOS, OBTENIDOS EN LA EVALUACION BIOLOGICA DE DISTINTAS HARINAS DE ALMENDRA DE HULE. a

Dieta	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Fuente de protefina	casefina	casefina	ninguna	ninguna	almendra cocida	almendra cocida extrafida	almendra re mojada	almendra re cocida	almendra cruda	almendra cocida (1980)	almendra cocida extrafida
Número de ratas	8	8	8	8	8	8	8	8 ^b	8	8	8
PER	2.83 (0.23) ü	2.87 (0.39) ü	-----	-----	0.99 (0.32) ü	0.73 (0.18) i,ü	0.96 (0.34) ü	0.33 (0.56) i	-----	0.66 (0.21) i,ü	0.87 (0.19) ü
Cambio de peso g	112.0 (20.2)	82.9 (17.4)	-13.1 (2.4)	-14.4 (2.4)	12.1 (5.5) ü,iv	13.0 (5.0) ü,iv	12.5 (6.3) ü,iv	4.0 (6.6) ü	-6.0 (4.5) i	10.0 (3.1) ü,ü	18.6 (3.9) iv
Alimento ingerido g	390.5 (44.0)	291.0 (37.8)	119.9 (12.7)	101.3 (9.5)	145.0 (17.1) ü,ü	157.4 (32.0) ü	152.8 (22.2) ü,ü	122.0 (11.3) i,ü	99.8 (10.5) i	154.6 (17.7) ü	192.5 (18.7) iv

a Las dietas aquí presentadas son las mismas indicadas en los Cuadros 11 y 12.

b En este caso, se inició la prueba con 8 ratas, pero los resultados presentados se obtuvieron con los datos de 7 de ellas, debido a que la octava murió durante la cuarta semana de experimentación. De las 7 ratas tomadas en cuenta, 2 tuvieron cambio de peso negativo.

i,ii,.... Diferencia no significativa ($p > 0.05$), entre los valores con el mismo subíndice.
() Los valores indicados entre paréntesis, son las desviaciones estándar correspondientes.

2. Valores de razón proteínica neta, NPR, obtenidos para distintas harinas de almendra de hule.

En el Cuadro 14 se presentan los valores de NPR obtenidos y los valores de alimento ingerido y cambio de peso correspondientes.

El cambio de peso es negativo para las dietas de harina de almendra cruda, dieta 9, y harina de almendra remojada-cocida, dieta 8; es positivo para las demás harinas de almendra de hule. En la dieta de harina de almendra remojada-cocida se presentó el caso de un animal que perdió más peso que el grupo control en dieta libre de proteína, del mismo valor calórico, dieta 4; por la razón anterior el valor de NPR resultó negativo para ese animal.

Todos los valores presentados fueron calculados en base a los datos obtenidos para las 8 ratas del grupo correspondiente.

3. Observaciones acerca de crecimiento, ingesta de alimento y mortalidad en los animales utilizados en la evaluación biológica, a lo largo de ocho semanas de experimentación.

De la Gráfica 4 a la Gráfica 14 se hace una presentación, para cada uno de los grupos de animales utilizados en la evaluación biológica, del peso promedio y el alimento promedio ingerido por semana, a lo largo de ocho semanas. También se indica si hubo mortalidad y de cuántos animales fue. La experimentación con las dietas libres de proteína se suspendió a la cuarta semana.

Hubo mortalidad de animales en los grupos alimentados con dieta de harina de almendra cruda, dieta 9, y dieta de harina de almendra remojada-cocida, dieta 8. En el caso de la dieta de harina de almendra cruda, durante la sexta semana de experimentación murieron dos ratas; al cabo de las ocho semanas quedaron seis ratas. En el caso de la dieta de harina de almendra remojada-cocida, durante la cuarta semana murió una rata, durante la quinta otra, durante la séptima otra y durante la octava murieron dos más; al cabo de las ocho semanas quedaron tres ratas únicamente.

Se encontraron otros problemas en algunos de los animales, orina anormal y pérdida de pelo. En quince de los ochentiocho animales utilizados se observó color y consistencia anormal de la orina; ésta era anaranjada y de consistencia pastosa. Este problema no se observó en las dietas control de caseína, pero sí en una dieta control libre de proteína y en algunas de las dietas de harina de almendra de hule. Las dietas en las que se observaron animales con orina anormal fueron las siguientes:

Dieta	4	7	8	9	10
No. de casos	7	1	1	2	4

De las ratas alimentadas con dietas con harina de almendra de hule, que tuvieron este problema, 2 murieron.

En trece de los ochentiocho animales utilizados se observó pérdida de gran cantidad de pelo, quedándoles la piel a la vista en media o tres cuartas partes del cuerpo. Este problema no se

observó en las dietas control de caseína, pero sí en una de las dietas control libres de proteína y en algunas de las dietas de harina de almendra de hule. En una de las dietas de caseína, dieta 2, algunos animales perdieron pelo en la región del pecho, quedándoles sólo parcialmente a la vista la piel. El problema agudo de caída de pelo se presentó en las siguientes dietas:

Dieta	3	6	7	8	9	10	11
No. de casos	1	3	1	3	1	1	3

En general se puede decir, respecto a los animales en dietas de harinas de almendra de hule que terminaron el experimento hasta la octava semana sin problemas de orina ni de pelo, que terminaron con una buena apariencia física externa. La única diferencia observable, por cierto muy marcada, en comparación con los animales en dietas control de caseína, fue el tamaño.

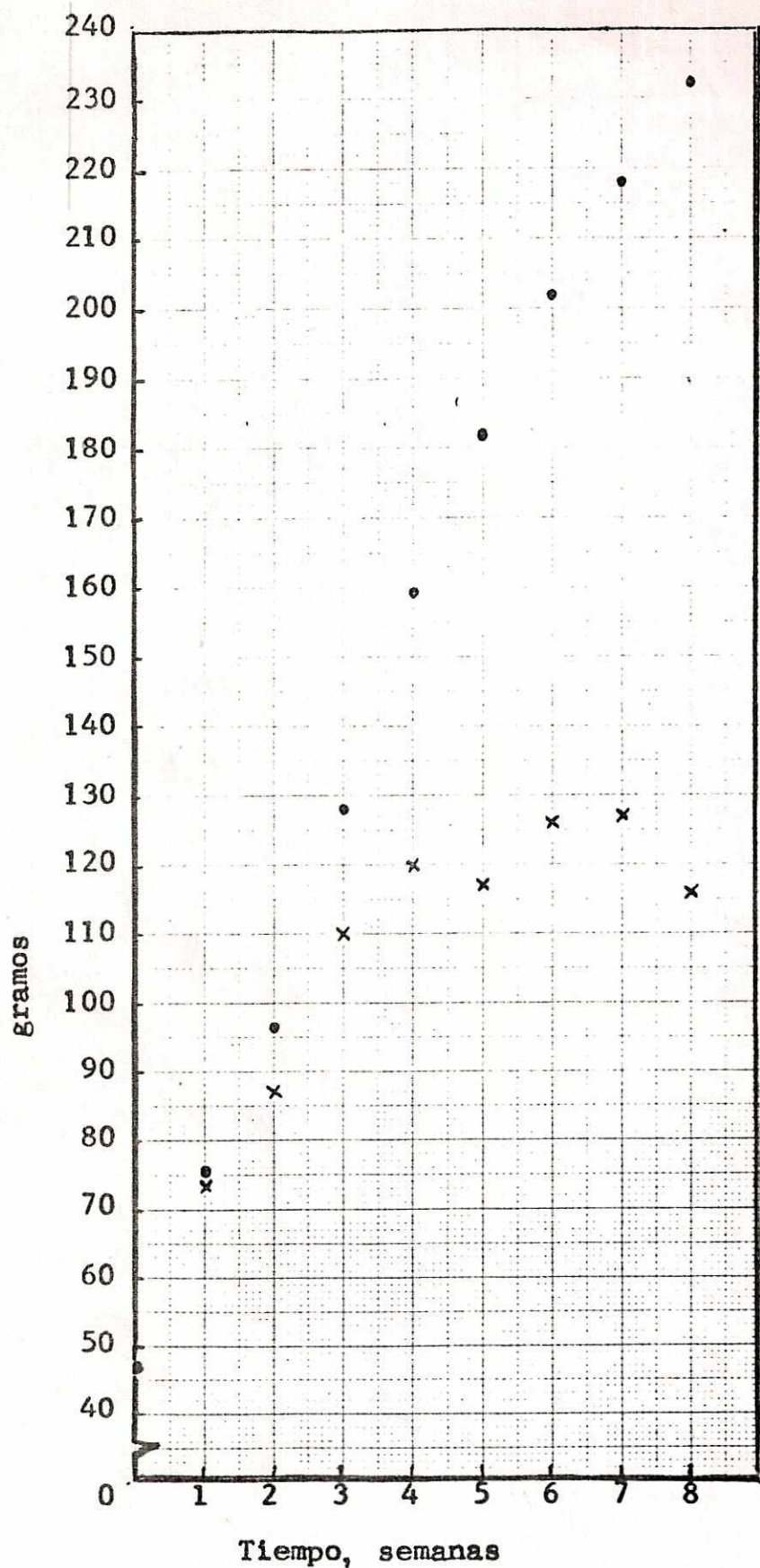
CUADRO 14

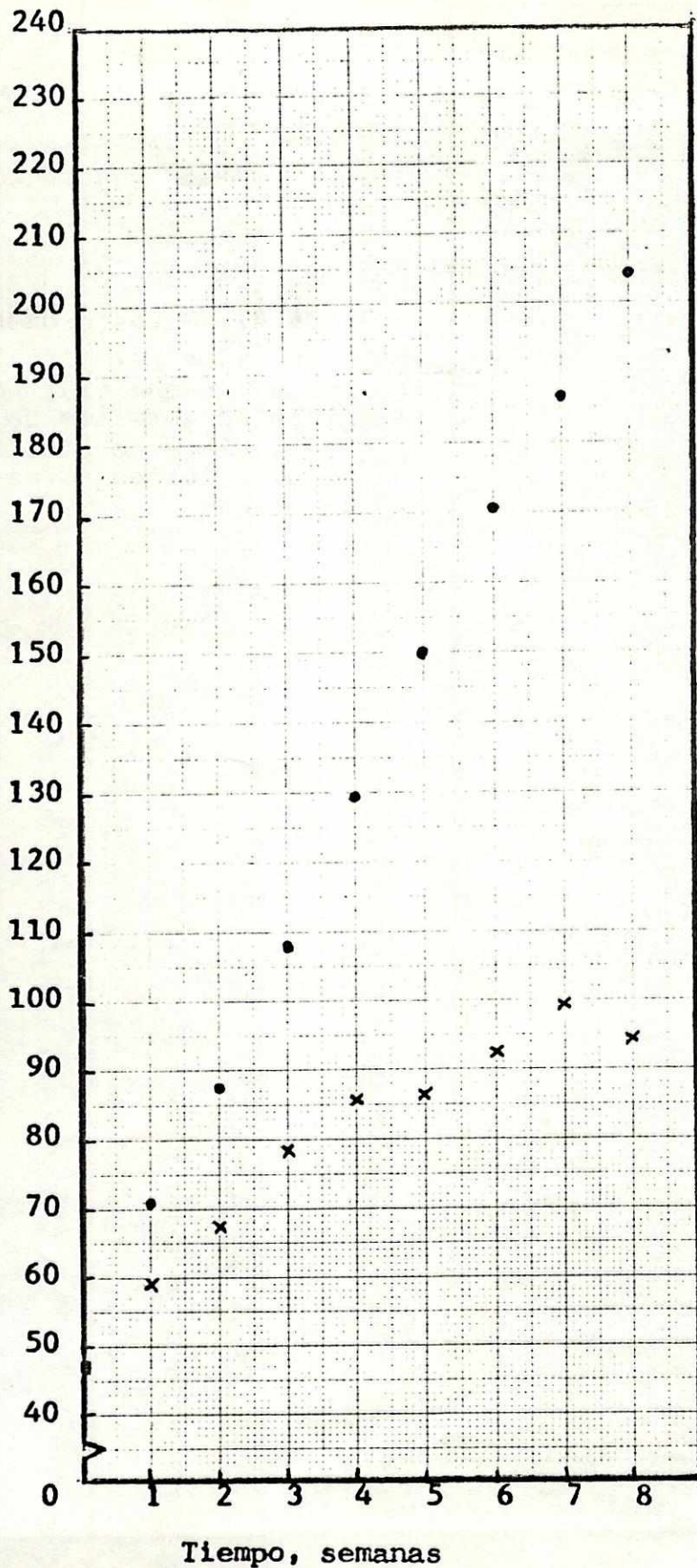
VALORES DE RAZON PROTEINICA NETA, NPR, Y DATOS RELACIONADOS, OBTENIDOS EN LA EVALUACION BIOLOGICA DE DISTINTAS HARINAS DE ALMENDRA DE HULE. a

Dieta Fuente de protefna	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
	casef-na	casef-na	ningu-na	ningu-na	a.co-cida	a.co-cida-extraf-da	a.re-mo-ja-da	a.re-mo-ja-da-cocida	a.a-cruda	a.co-cida (1980)	a.co-cida-extraf-da
Número de ratas	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
NPR	3.59 (0.45)	4.03 (0.48)	-----	-----	2.35 (0.53)	1.74 (0.40)	2.48 (0.61)	1.71 (1.00)	0.91 (0.43)	2.11 (0.32)	1.62 (0.36)
Cambio de peso &	üü	üü	-----	-----	ü	i,ü	ü	i,ü	i	ü	i,ü
	49.8 (13.2)	40.6 (8.1)	-9.1 (2.7)	-9.8 (1.6)	3.0 (3.7)	4.5 (4.3)	4.8 (4.7)	-0.3 (5.4)	-5.9 (2.0)	6.1 (1.8)	6.5 (3.2)
Alimento ingerido &	160.9 (19.9)	126.6 (15.7)	66.9 (6.9)	58.3 (6.0)	65.6 (5.3)	73.2 (15.8)	69.9 (7.8)	59.3 (6.3)	49.5 (2.9)	77.6 (7.7)	86.9 (8.6)

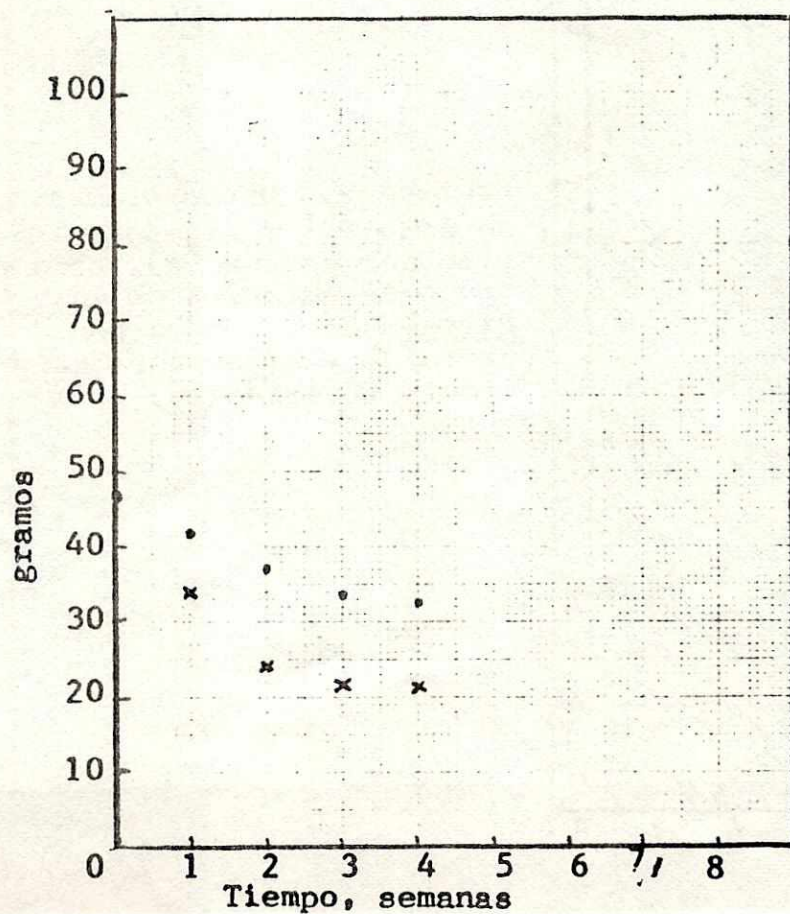
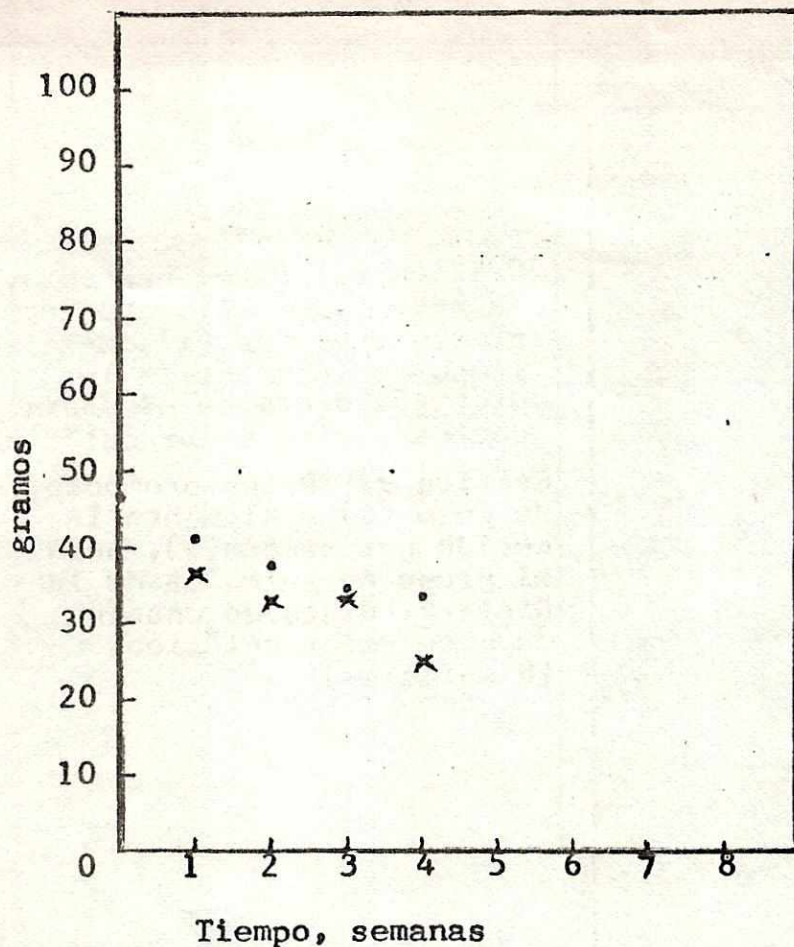
a Las dietas aquí presentadas son las mismas indicadas en los Cuadros 11, 12 y 13. i, ii, . . . Diferencia no significativa ($p > 0.05$), entre los valores con el mismo subíndice.

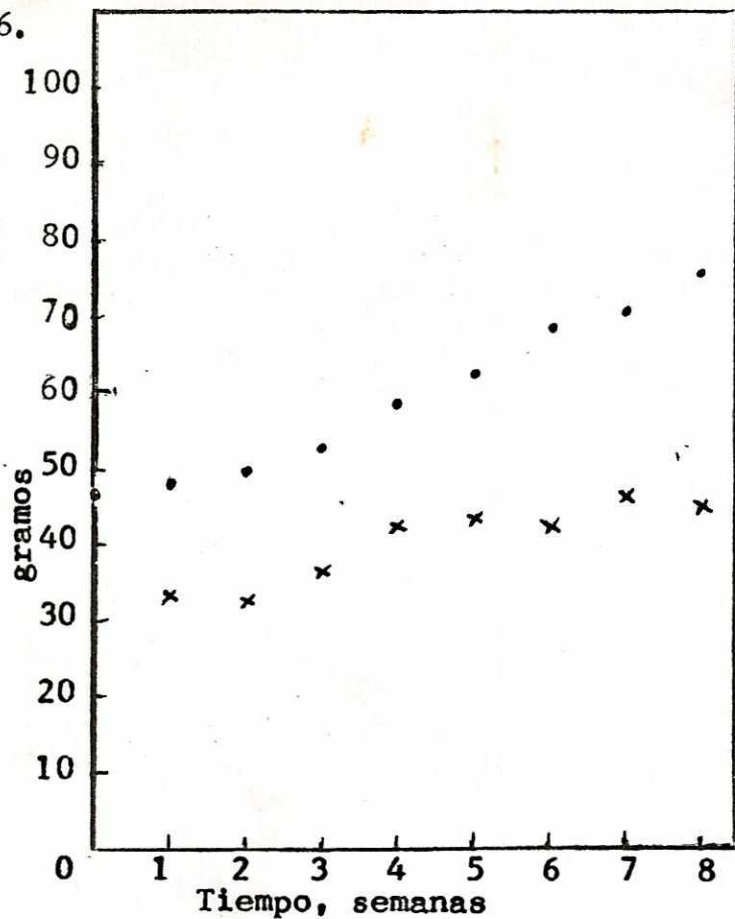
() Los valores presentados entre paréntesis, son las desviaciones estándar de los correspondientes datos.



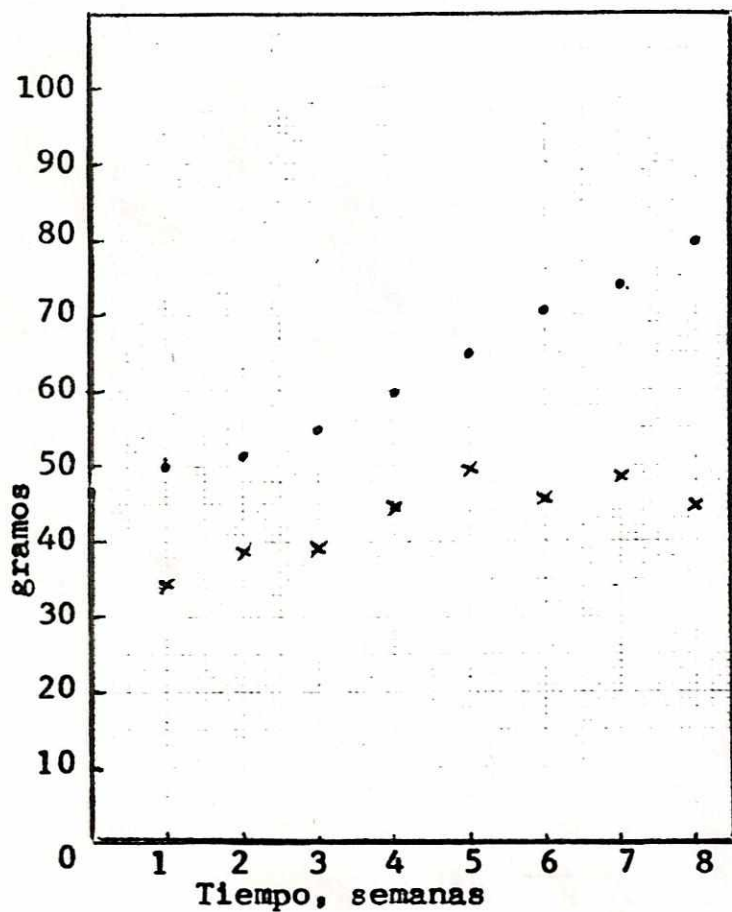


Gráfica 5. Datos promedio, de peso (.) y alimento ingerido por semana(x), para el grupo de animales de la Dieta-2, dieta de caseína, de alto valor calórico. (8 animales)

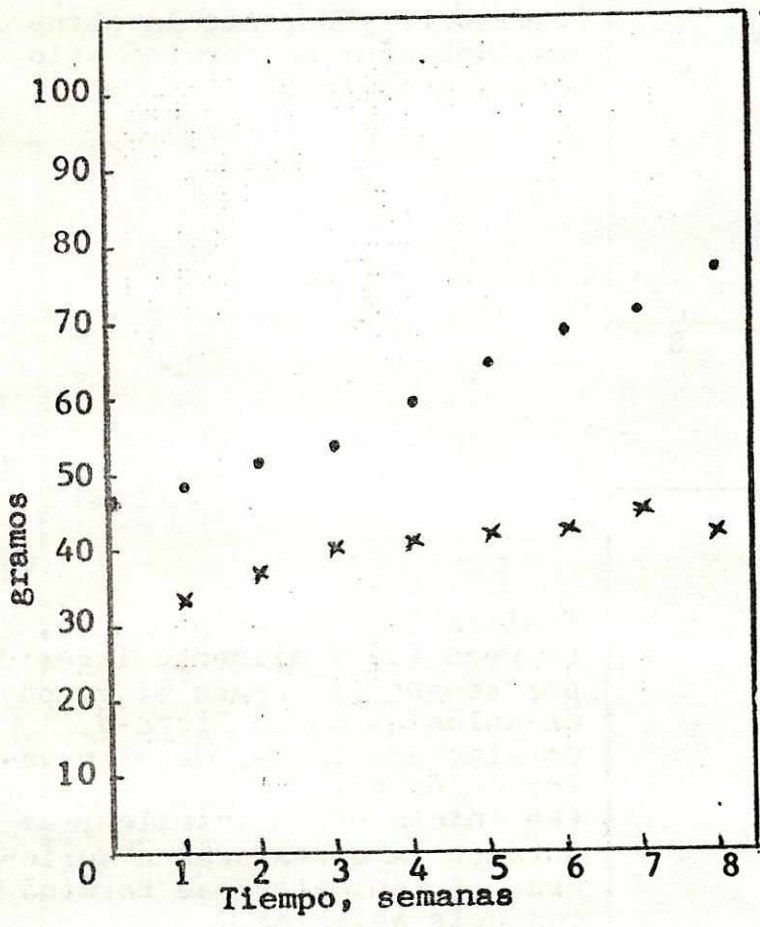




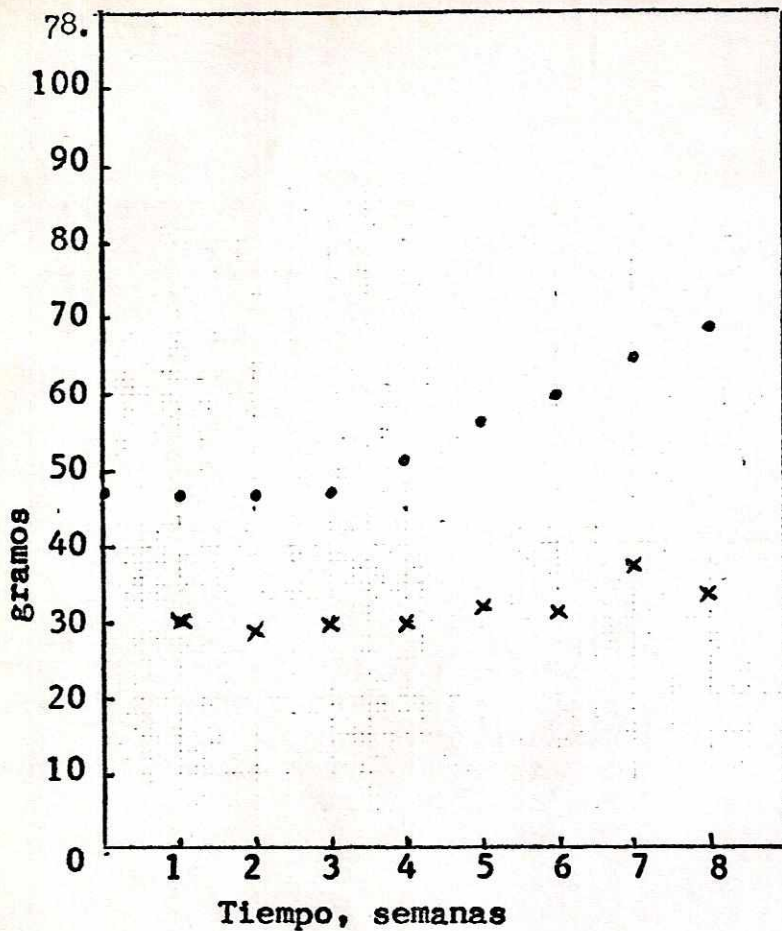
Gráfica 8. Datos promedio, de peso (.) y alimento ingerido por semana (x), para el grupo de animales de la Dieta-5, dieta de almendra cocida y alto valor calórico. (8 animales)



Gráfica 9. Datos promedio, de peso (.) y alimento ingerido por semana (x), para el grupo de animales de la Dieta-6 de almendra cocida-extraída y alto valor calórico. (8 animales)

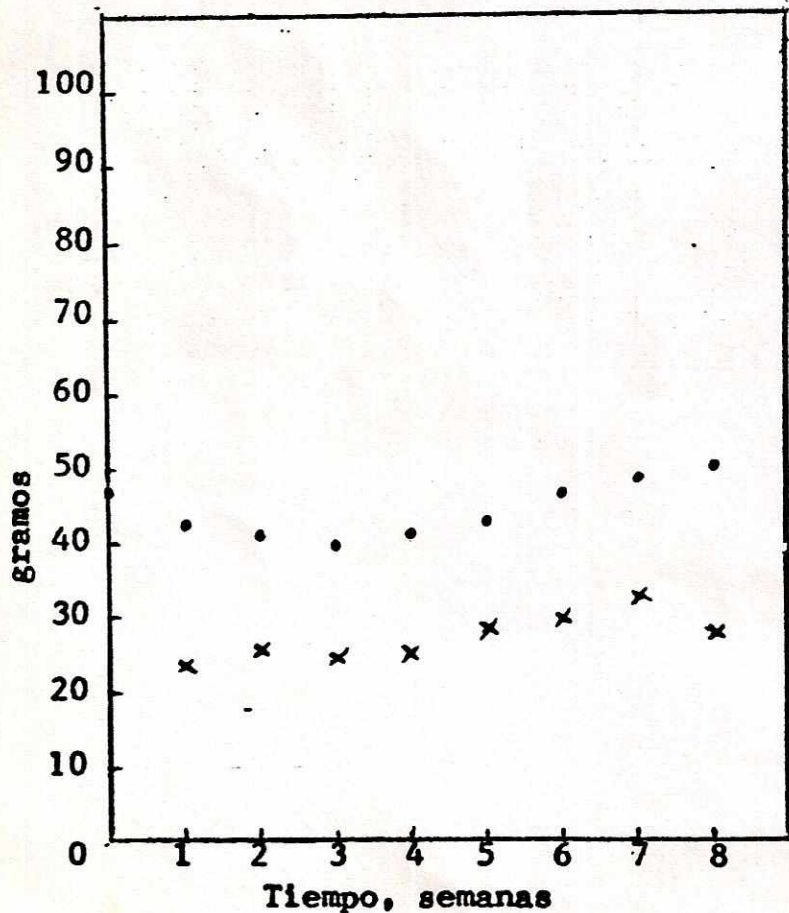


Gráfica 10. Datos promedio, de peso (.) y alimento ingerido por semana (x), para el grupo de animales de la Dieta-7, de almendra remojada y alto valor calórico. (8 animales)



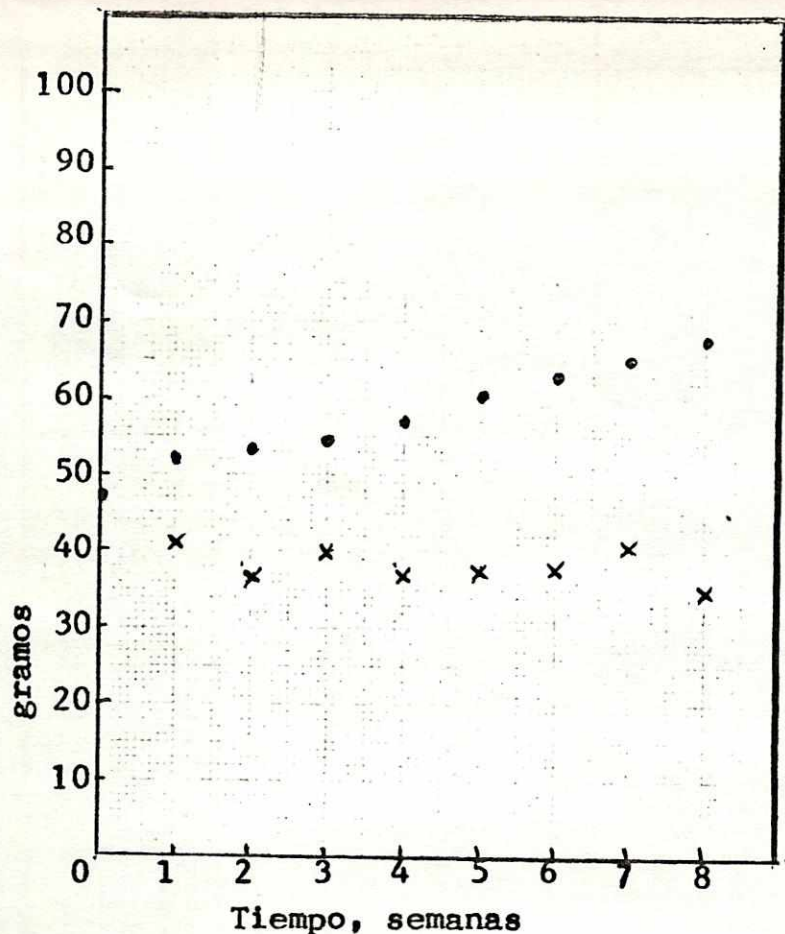
Gráfica 11. Datos promedio, de peso (.) y alimento ingerido por semana (x), para el grupo de animales de la Dieta-8, de almendra remojada-cocida, de alto valor calórico.

(Se inició con 8 animales; durante la cuarta semana, murió un animal, durante la quinta, otro, durante la séptima, otro y durante la octava, dos más; se terminó sólo con 3 animales.)

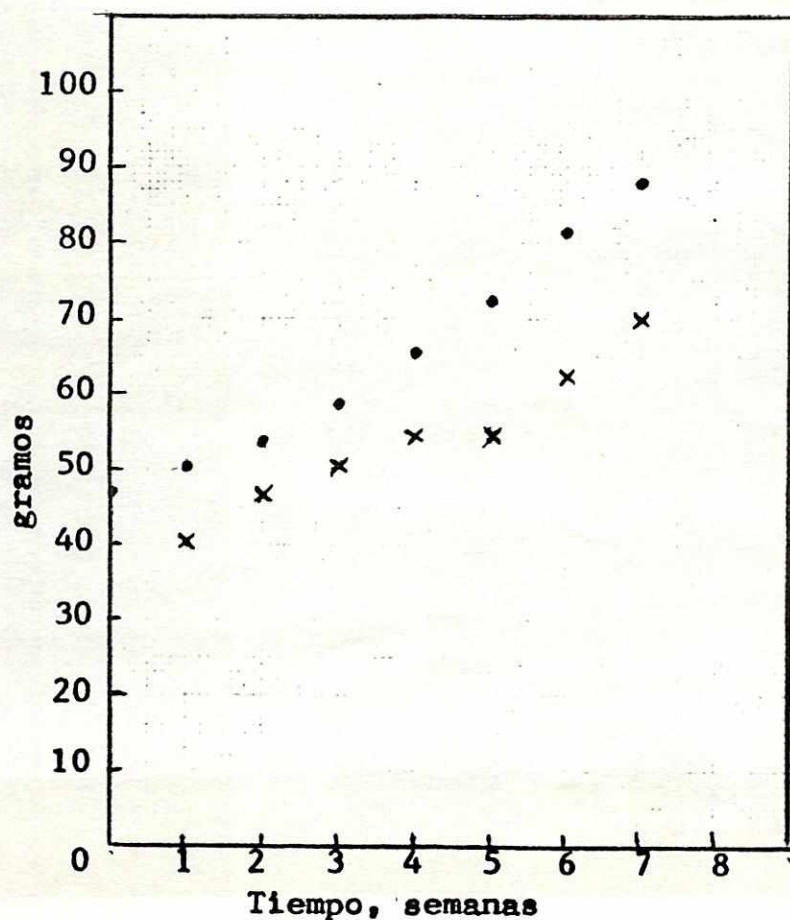


Gráfica 12. Datos promedio, de peso (.) y alimento ingerido por semana (x), para el grupo de animales de la Dieta-9, de almendra cruda, de alto valor calórico.

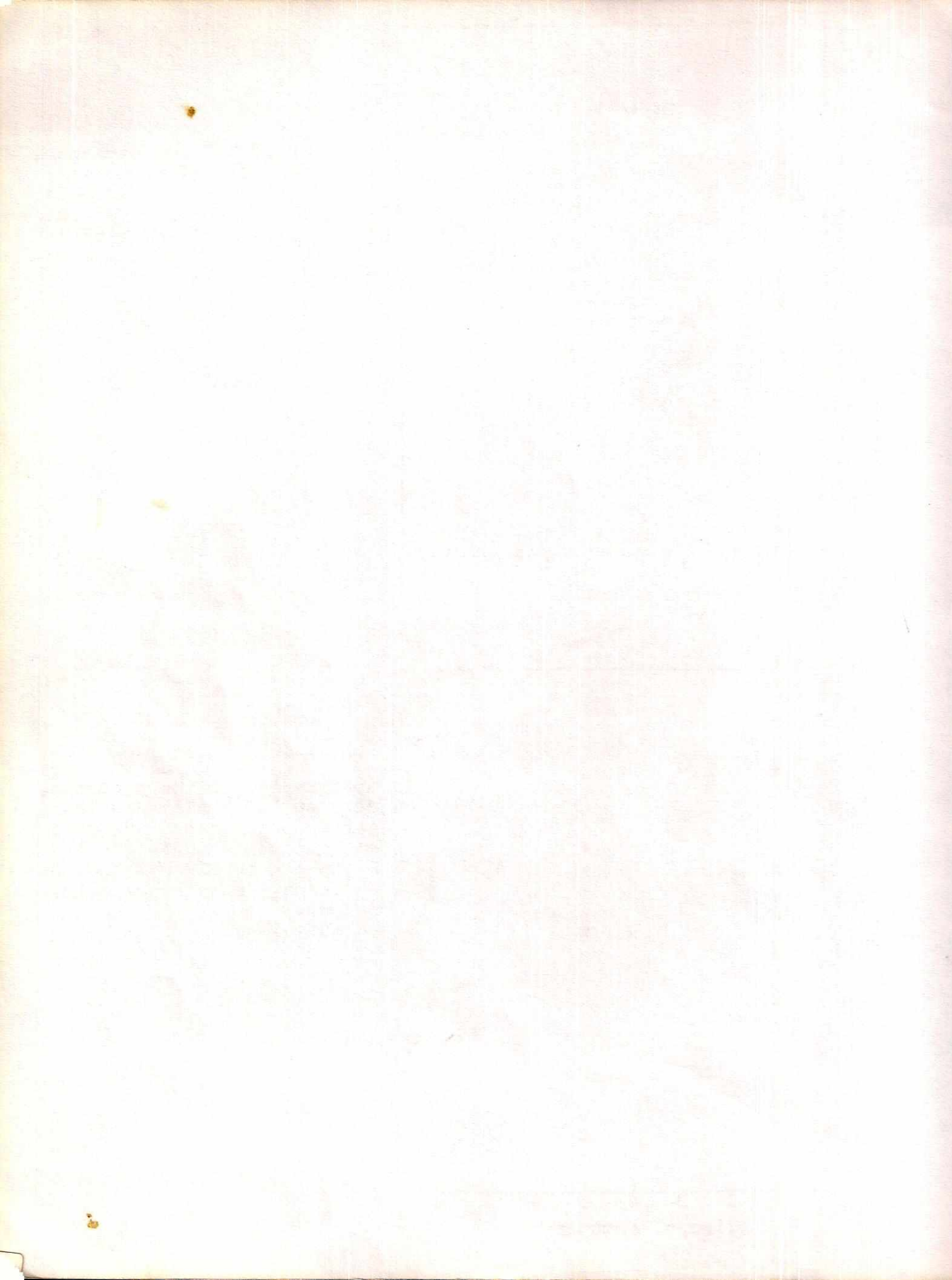
(se inició con 8 animales; durante la sexta semana murieron 2 animales; se terminó con seis animales.)



Gráfica 13. Datos promedio, de peso (.) y alimento ingerido por semana (x), para el grupo de animales de la Dieta-10, de almendra cocida (1980), de alto valor calórico. (8 animales)



Gráfica 14. Datos promedio, de peso (.) y alimento ingerido por semana (x), para el grupo de animales de la Dieta-11, de almendra cocida-extraída, de valor calórico normal. (8 animales)



VII. DISCUSION

A. Composición química de la almendra de hule.

El contenido de extracto etéreo en la almendra de hule encontrado en el presente estudio, 48.0% en base seca, es semejante al informado por Fetuga y colaboradores, 49.49%, para almendra de semilla de hule de Nigeria (Fetuga et al, 1977); sin embargo, es mayor que el informado por Orok y Bowland, 45.16%, (Orok and Bowland, 1974) para almendra de semilla de Nigeria y que el informado por Rosal, 40.51%, para almendra de semilla de Guatemala (Rosal, 1970). Lo anterior indica que el contenido de extracto etéreo en la almendra de hule constituye entre el 40 y 50% del peso de la almendra seca. Las diferencias en los valores informados son pequeñas y pueden deberse a variaciones dentro de los diferentes clones de Hevea brasiliensis y a las diferentes condiciones en que han vivido las plantas de las cuales se obtuvieron las muestras.

La almendra de semilla de hule tiene un contenido alto de extracto etéreo en comparación con otras almendras de semillas oleaginosas; por ejemplo, los contenidos de extracto etéreo en base seca son 50.15% en maní, 18.06% en semilla de soya, (Wu Leung y Flores, 1961) y 31.8% en almendra de semilla de algodón (UTEHA, 1961).

En cuanto al contenido de proteína cruda encontrado, 18.5% en base seca, es levemente diferente al informado por otros autores. Rosal (Rosal, 1970) informa un contenido de 16.24%, Orok y Bowland informan 19% (Orok and Bowland, 1974), Fetuga y colaboradores informan 22.54% (Fetuga et al, 1977) y Lauw y colaboradores informan 27%

(Lauw et al, 1967). En base a lo anterior se puede decir que el contenido de proteína cruda en la almendra seca constituye entre el 16 y el 27% de su peso.

Comparando el contenido de proteína cruda en la almendra de hule con el contenido en otras almendras de oleaginosas, se puede ver que el de almendra de hule es menor. El maní tiene un contenido de proteína en base seca de 28.3%, la semilla de soya un 36.8%, (Wu Leung y Flores, 1961) y la almendra de algodón un 32.5% (UTEHA, 1961).

Los contenidos de fibra cruda y cenizas informados en este estudio, 5.4% y 3.37% respectivamente, en base seca, son semejantes a los indicados por Rosal, 5.7 y 3.6% (Rosal, 1970). El contenido de fibra cruda es levemente diferente al encontrado por Fetuga y colaboradores y Orok y Bowland, quienes indican contenidos de 3.8% de fibra cruda y 3.47% de cenizas (Fetuga et al, 1977) y 3.97% de fibra cruda y 3.92% de cenizas (Orok and Bowland, 1974). Lo anterior indica que el contenido de fibra cruda en la almendra de hule está entre 3 y 6% y el contenido de cenizas entre 3 y 4%, en base seca.

Los contenidos de fibra cruda y cenizas en base seca son 1.8% y 2.97% en maní, 6.3 y 6.1% en soya y 5.2 y 7.4% en almendra de algodón (Wu Leung y Flores, 1961; UTEHA, 1961). Comparando los valores anteriores con lo determinado para almendra de hule, se observa que el maní tiene menores contenidos de fibra cruda y cenizas, la semilla de soya mayores y la almendra de algodón contenido semejante de fibra cruda y mayor de cenizas.

Respecto a contenido de fósforo, calcio y hierro, en base seca, los valores determinados en el presente estudio para almendra de hule son 429, 109 y 6.2 mg/100g, respectivamente, y son menores que los informados por Fetuga y colaboradores, 640, 480 y 9.3 mg/100g (Fetuga et al, 1977)

Los contenidos de estos tres minerales, fósforo, calcio y hierro, en otras almendras de oleaginosas son en base seca, 494, 49 y 3.4 mg/100g en maní, 795, 242 y 12.5 mg/100g en semilla de soya, (Wu Leung y Flores, 1961). Lo anterior indica contenidos de fósforo y hierro semejantes en almendra de hule y en maní y contenido de los tres minerales mayor en semilla de soya que en almendra de hule.

La ingesta diaria recomendada de fósforo, calcio y hierro para humanos de 11 años de edad en adelante es, respectivamente, 800-1200 mg., 800-1200 mg. y 10-18 mg. (National Academy of Sciences, 1980). La almendra de hule es una buena fuente de estos tres minerales, principalmente de fósforo y hierro, ya que aún ingestas de cantidades pequeñas de almendra podrían satisfacer en gran porcentaje los requerimientos mencionados.

El contenido de cianuro en la almendra fresca de hule es, según el presente estudio, cercano a 155.6 mg. de cianuro total en 100 g. de almendra fresca, siendo 146.6 mg. cianuro enlazado y 9.0 mg. cianuro libre. Se encontraron valores de contenido de cianuro total entre 130 y 230 mg/100g. en las muestras analizadas. Otros autores indican un contenido de cianuro en almendra fresca de 46.2 mg/100g (Auld, 1912-3), 8.8 mg/100g (Butler, 1965), 220 mg/100g (Lauw et al,

1967) y 117 mg/100g (Rosal, 1970).

Para ninguno de los contenidos de cianuro informados por otros autores se especifica cuánto es cianuro enlazado y cuánto es cianuro libre; sólo para la determinación de uno de ellos se trabajó por hidrólisis enzimática con linamarasa exógena (Butler, 1965). Los dos últimos valores indicados se determinaron por autólisis, hidrólisis con linamarasa endógena, y por ello no se puede tener la seguridad de que el valor informado sea de cianuro libre únicamente, ni de cianuro total. Sin embargo, son esos dos últimos valores indicados, los únicos semejantes a los determinados en el presente estudio.

De lo que se conoce sobre los efectos tóxicos del cianuro y compuestos que lo contienen, es el cianuro en forma libre el que determina la toxicidad de un alimento; por lo anterior es importante conocer el contenido de cianuro libre de un alimento, que se sabe contiene cianuro como tal o formando parte de ciertos compuestos. También es importante conocer el contenido potencial de cianuro libre de un alimento, esto es, el contenido de cianuro enlazado, ya que bajo condiciones específicas todo él puede pasar a estar como cianuro libre.

En el presente trabajo se determinó el contenido de cianuro por hidrólisis enzimática con linamarasa exógena y además se determinó sin intervención de linamarasa endógena ni exógena. Este método de determinación de cianuro (Cooke, 1978) permite conocer en el primer caso el contenido de cianuro total y en el segundo el contenido de cianuro libre. El contenido de cianuro enlazado, se calcula por diferencia de los contenidos de cianuro total y libre.

El contenido de cianuro enlazado calculado en el presente estudio para la almendra fresca de hule, equivale a un contenido de 1393 mg. de linamarina en 100 g. de almendra.

Según lo determinado sobre contenido de cianuro en almendra fresca de distintos clones de hule, los contenidos de cianuro enlazado van desde 126 mg/100g hasta 217 mg/100g y los contenidos de cianuro libre van desde 6 mg/100g hasta 12 mg/100g. Es muy probable que las diferencias encontradas en el contenido de cianuro en los distintos clones analizados se deban en gran parte a diferencias en el grado de hidrólisis por linamarasa endógena y eliminación de cianuro libre como ácido cinhídrico, HCN. El grado en que ha sucedido la formación y eliminación natural de cianuro libre en la semilla depende del tiempo que ésta lleva de haber caído del árbol y de las condiciones de humedad y temperatura a las que ha estado sometida antes de ser recolectada y analizada, como se indica en general para materiales vegetales que contienen glicósidos cianogénicos (Montgomery, 1965).

Haciendo una comparación del contenido de cianuro en la almendra fresca de hule con la dosis letal media de cianuro ingerido por vía bucal, 0.5 mg/Kg peso corporal, (Dreistach, 1980)*, se encuentra que el contenido de cianuro en la almendra fresca está en un nivel peligroso. En base al contenido promedio de cianuro total en la almendra de hule fresca, determinado en este estudio, en 16 mg. de almendra fresca está contenida la dosis letal media para ratas de 50 g. de peso corporal, y en 19 g. de almendra fresca está contenida la dosis letal media para seres humanos de 60 Kg. de peso corporal.

*La dosis letal media o dosis letal al 50%, LD50, se determina en animales de experimentación; indica la cantidad de un compuesto tóxico que causa mortalidad del 50% de los animales del grupo utilizado en la prueba.

Basarse en los contenidos de cianuro libre en la almendra, en vez de en los contenidos de cianuro enlazado, para hacer los cálculos anteriores es arriesgado, pues la almendra fresca contiene linamarasa activa, capaz de aumentar considerablemente el contenido de cianuro libre.

Comparando el contenido de cianuro total en la almendra de hule, según lo determinado en este estudio, con el contenido informado en la literatura para otros productos vegetales, se observa que el de almendra de hule es alto. Los productos vegetales comestibles con mayor contenido de cianuro, debido a glicósidos cianogénicos, son el frijol lima y la yuca; se informa para el primero contenidos entre 10 y 300 mg. de cianuro en 100 g. de tejido fresco y para el segundo contenidos entre 7 y 110 mg. de cianuro en 100 g. de tejido fresco. (Montgomery, 1965; Ammerman, 1975; Cooke and Maduagwu, 1978).

- B. Efecto del remojo, la cocción, el remojo-cocción y la cocción-extracción de aceite en el contenido de cianuro en la almendra de hule.

Según los resultados obtenidos en el presente estudio, al hacer pruebas de diferentes tratamientos a la almendra fraccionada, se determinó que el tratamiento más efectivo para eliminar mayor contenido de cianuro total, es el tratamiento combinado de veinte horas de remojo y una hora de cocción. Este tratamiento elimina tanto cianuro enlazado como cianuro libre dejando remanente solo el 4, 5 y 4% del contenido original de cianuro total, enlazado y libre, respectivamente, en la almendra.

Algunos de los otros tratamientos tienen bastante efectividad en la disminución de cianuro enlazado y otros en la disminución de cianuro libre, pero ninguno tanta efectividad en la disminución de

ambos, como el tratamiento mencionado de remojo-cocción.

El tratamiento de cocción por media hora y extracción con hexano por cuatro horas, es casi tan efectivo como el de remojo por nueve horas, para disminuir el contenido de cianuro enlazado en la almendra fraccionada; estos dos tratamientos son mucho más efectivos en ese sentido que el tratamiento de cocción por una hora. Lo anterior significa que los glicósidos cianogénicos presentes en el material son extraídos y disueltos en el solvente o son hidrolizados, pasando el cianuro en forma libre al solvente, cuando el material fraccionado es remojado en agua o en hexano. También significa que el tratamiento de una hora de cocción contribuye a disminuir el contenido de cianuro enlazado por medio de la disolución de los glicósidos cianogénicos en el agua, proceso que se ve favorecido por el calor. El proceso de disminución de contenido de cianuro enlazado debido a hidrólisis no es factible en el tratamiento de cocción, ya que según los informes de Joachim y Pandettesekere, la linamarasa pierde su actividad al ser sometida a temperaturas mayores de 72 °C (Joachim and Pandettesekere, 1944).

Para disminuir el contenido de cianuro libre en la almendra fraccionada, son efectivos todos los tratamientos que incluyen cocción. El remojo en agua es el tratamiento menos efectivo de los probados, para disminuir el contenido de cianuro libre.

Es importante señalar que así como una disminución en el contenido de cianuro enlazado puede no afectar el contenido de cianuro libre, puede en ciertas circunstancias sí afectarlo. Cuando la disminución anteriormente mencionada es debida sólo a disolución de cianuro enlazado en el solvente, no se ve afectado el contenido de cianuro libre,

pero cuando es debida también a hidrólisis, sí afecta al contenido de cianuro libre. Los efectos de la disminución del contenido de cianuro enlazado sobre el contenido de cianuro libre se observan en los resultados de las pruebas de remojo. Después de veinticinco horas de remojo, el cianuro libre presente ha resultado en parte de la hidrólisis de cianuro enlazado.

Es importante señalar también que la razón de porcentajes, respecto al cianuro total, de cianuro enlazado a cianuro libre, disminuye después del tratamiento de veinticinco horas de remojo y aumenta después de los tratamientos de cocción y cocción-extracción.

La gran efectividad del tratamiento de remojo por veinte horas y cocción por una hora, para disminuir tanto el contenido de cianuro enlazado como el contenido de cianuro libre, se debe a que por una parte el remojo prolongado de la almendra fraccionada favorece en alto grado el contacto linamarina-linamarasa y tejido interno-agua, permitiendo el paso de cianuro en forma enlazada a cianuro en forma libre y la disolución de este último en agua. Por otra parte, la cocción favorece la eliminación del cianuro libre por evaporación de HCN, y en menor grado favorece también la disolución de cianuro enlazado en el agua. Es importante notar que este tratamiento remojo-cocción además de ser el más efectivo para la eliminación de cianuro, deja desactivada la linamarasa endógena, por haber sido sometida a temperatura mayor que 72°C , temperatura informada como de desactivación de la enzima. Este hecho implica que si la almendra tratada por remojo-cocción no es puesta en contacto con linamarasa exógena, es casi nula la probabilidad de que el poco cianuro remanente en forma enlazada pase a forma libre.

De los otros tratamientos estudiados, el único que no desactiva la linamarasa endógena es el de simple remojo; lo anterior podría poner en desventaja a este tratamiento en cuanto a toxicidad potencial de la almendra, si el tiempo de remojo no es suficiente para disminuir el contenido de cianuro enlazado a un nivel no peligroso. Si la almendra después del remojo es deshidratada a temperaturas mayores de 72 °C, este tratamiento térmico además de ayudar a eliminar parte del cianuro libre remanente, desactiva la linamarasa endógena. Sin embargo, calentar la almendra a temperaturas superiores a 60-70 °C puede dañar su calidad organoléptica, principalmente si se favorece la oxidación del aceite que ésta contiene.

En base a los contenidos remanentes de cianuro en la almendra remojada por veinte horas y cocida por una hora, 5.4 mg. de cianuro total en 100 g. y 0.4 mg. de cianuro libre en 100 g., se puede evaluar la toxicidad de la almendra así tratada. La dosis letal media para ratas de 50 g. de peso estaría contenida en 8 g. de almendra tratada, tomando en cuenta el contenido de cianuro libre únicamente y en 0.5 g. de almendra, tomando en cuenta el contenido de cianuro total. Para seres humanos de 60 Kg. de peso, la dosis letal media estaría contenida en 10,000 g. de almendra tratada, tomando en cuenta el contenido de cianuro libre y en 566 g. de almendra tratada, tomando en cuenta el contenido de cianuro total.

No se encontró información en la literatura acerca del efecto de los tratamientos de remojo, cocción, remojo-cocción y cocción-extracción de aceite con hexano en el contenido de cianuro enlazado y cianuro libre en la almendra de hule. Rosal informa en términos generales

de cianuro (Rosal, 1970), una reducción del 99% de su contenido en almendra de hule al molerla y extraerla con hexano. Lauw y colaboradores informan, también en términos generales de cianuro, una reducción del 28% de su contenido en almendra de hule al cocinarla y secarla y una reducción del 29% después de remojarla, cocinarla, molerla, prensarla y extraerla con éter de petróleo.

Cooke y Maduagwu informan (Cooke and Maduagwu, 1978) acerca del efecto de tratamientos de cocción y remojo en el contenido de cianuro enlazado y libre en raíz de yuca. En general informan tendencias semejantes de disminución de contenido de cianuro enlazado y libre con tratamiento de cocción y con tratamiento de remojo por pocas horas; en el caso de remojo por dieciocho horas, informan una disminución despreciable del contenido de cianuro libre y una disminución del 50% en el contenido de cianuro enlazado. Lo anterior lo explican como resultado de inicio de proceso de fermentación, en el material fraccionado de yuca utilizado en la prueba, el cual contribuye en alto grado a la hidrólisis del cianuro enlazado.

En el presente estudio no se observó desarrollo de fermentación en el material que se remojó.

C. Composición química de las distintas harinas de almendra de hule preparadas para la evaluación biológica.

Según los resultados obtenidos en la determinación del contenido de extracto etéreo y proteína cruda de las harinas de almendra de hule preparadas en el presente estudio, el extraer con hexano la harina de almendra cocida permitió reducirle en un 85% el contenido de extracto etéreo y aumentarle en un 62% el contenido de proteína cruda.

El tratamiento de extracción con hexano de la almendra cocida-molida permite la obtención de dos productos, aceite y harina desgrasada. Según otras investigaciones, ese aceite puede ser utilizado en industrias de pinturas y barnices (Elías, 1971). La harina desgrasada, aunque es más baja en valor calórico que la harina completa, tiene mucho mayor contenido de proteína.

Es importante señalar que, según se explica en el Apéndice D, en la preparación de las harinas de almendra recolectada en 1981, tratada por remojo, cocción, remojo-cocción y cocción-extracción, la almendra fue sometida al tratamiento de remojo o de cocción sin haberse molido previamente. Esto es, al remojar o cocinar la almendra, ésta estaba sólo muy levemente fraccionada. En el caso de la harina de almendra recolectada en 1980, tratada por cocción, la almendra sí se molió antes de ser sometida al tratamiento.

En la preparación de todas las harinas se incluyó uno o dos procesos de secado de la almendra o de la harina de ésta, a una temperatura de 60-70 °C. También se incluyó molienda de la almendra ya tratada y secada; en el caso del tratamiento de cocción-extracción, la extracción se hizo sobre el material molido.

En base a los señalamientos anteriores, a los resultados de las pruebas hechas al someter almendra a distintos tratamientos en pequeña escala y a otras observaciones, se pueden explicar los contenidos de cianuro total y libre en las distintas harinas preparadas.

La harina de almendra recolectada en 1981, cocida por media hora, tiene el mismo contenido de cianuro total que la harina de almendra cruda, debido a que al someter la almendra sólo levemente fraccionada, al proceso de cocción, no se favoreció la disolución de cianuro enlazado ni de cianuro libre en el agua. El poco cianuro libre

que logró disolverse en el agua sí fue eliminado como HCN; por constituir el cianuro libre un porcentaje tan bajo del cianuro total, la disminución leve de cianuro libre lograda no afectó el contenido de cianuro total. Es necesario que el tejido interno de la almendra esté en contacto con el agua, para que el contenido de cianuro enlazado y libre disminuya. Estando la almendra sólo levemente fraccionada, el contacto tejido interno-agua está limitado por el tegumento que rodea a la almendra.

El hecho de que la harina de almendra remojada por veinte horas tenga el mismo contenido de cianuro total que la harina de almendra remojada por veinte horas y cocida por media hora, y que este contenido sea menor que el de la harina de almendra cocida por media hora, se puede explicar también con las mismas bases mencionadas anteriormente. Al remojar por veinte horas la almendra levemente fraccionada, la disminución en el contenido de cianuro enlazado y libre es menor que al remojarla molida, pues el contacto tejido interno-agua y linamarina-linamarasa está muy limitado en el caso de la almendra no molida. El proceso de remojo por veinte horas de la almendra levemente fraccionada, permite mayor tiempo de contacto tejido interno-agua, que el proceso de cocción en agua y además, aunque sea en forma limitada, permite el contacto y la reacción linamarina-linamarasa, no permitido en la cocción. El tratamiento de cocción por media hora de la almendra levemente fraccionada, previamente remojada por veinte horas, favorece únicamente y en bajo grado, la disminución del contenido de cianuro libre. Por constituir el contenido de cianuro libre un porcentaje tan bajo del contenido de cianuro total, una disminución leve en él casi no afecta el contenido de cianuro total.

La harina de almendra cocida-extraída con hexano tiene un contenido de cianuro total menor que el de las otras harinas preparadas con almendra de hule recolectada en 1981. Aunque la cocción se hizo por media hora sobre la almendra sólo levemente fraccionada, la extracción con hexano se hizo sobre la almendra cocida, molida, por cerca de ocho horas; el tratamiento favoreció la disolución de cianuro enlazado y con ello la disminución del contenido de cianuro total. Obsérvese que según los resultados hechos en almendra a pequeña escala, el tratamiento de cocción por media hora y extracción, era más efectivo que todos los demás con excepción del de veinte horas de remojo y una hora de cocción.

La harina de almendra cocida por media hora, preparada con almendra recolectada en 1980, es entre las harinas preparadas, la de menor contenido de cianuro total. Su contenido de cianuro total en base seca fue de 8.3 mg/100g y es mucho menor que el de la almendra fresca recolectada en 1981, que fue sometida fraccionada al mismo tratamiento, en las pruebas de efecto de cocción hechas a pequeña escala, ya discutidas. El contenido de cianuro total en esta última fue 91 mg/100g en base seca.

El contenido tan bajo de cianuro total en la harina de almendra de semilla recolectada en 1980, se debe además de al tratamiento de cocción a que fue sometida la almendra, a pérdida de cianuro en forma de HCN durante el año que la semilla estuvo almacenada. Se puede afirmar que durante el almacenamiento de material que contiene glucósidos cianogénéticos hay pérdida de HCN, especialmente si el material está almacenado en condiciones húmedas y calientes, basándose en información encontrada en la literatura, (Montgomery, 1965).

El punto normal de ebullición del HCN es 26 °C, por lo que a esa temperatura y a temperaturas mayores, el cianuro libre presente en la almendra se elimina gradualmente; además bajo condiciones húmedas en la semilla, sucede en cierto grado la hidrólisis de cianuro enlazado por acción de la linamarasa endógena. La semilla recolectada en 1980, que se utilizó después de estar almacenada por un año, para preparar la harina en cuestión, estuvo durante ese año a temperaturas de 6-12 °C y en un ambiente de cierta humedad (la almendra aún contenía cerca de un 12% de humedad); bajo estas condiciones aún es posible la eliminación de HCN, aunque en menor grado, y una pérdida leve y gradual de HCN, puede después de un año representar un porcentaje de pérdida importante.

Los contenidos de cianuro libre en las distintas harinas preparadas, son bajos en el caso de las harinas preparadas con tratamiento de cocción, como es de esperarse. Aparentemente el contenido de cianuro libre en la harina de almendra remojada, es más alto que aquel en la harina de almendra cruda; lo anterior se podría explicar diciendo que el remojo favoreció, aunque en forma limitada, la hidrólisis de cianuro enlazado y que el cianuro libre formado no se logró difundir en alto grado hacia el agua de remojo.

Como se señala en el análisis estadístico hecho para contenido de cianuro determinado en este estudio, las diferencias indicadas deben de tomarse con cautela. También, debe tenerse en cuenta, que los datos determinados de contenido de cianuro son los límites inferiores de los contenidos reales; esto es debido a que a lo largo del procedimiento de determinación, es muy probable, que se haya perdido cierta cantidad de cianuro por problemas en el método señalados en el Apéndice A.

D. Valor calórico de la harina de almendra de hule cruda.

El valor calórico determinado para la harina de almendra cruda, 682 Kcal/100g, es muy cercano al informado por Orok y Bowland, 650 Kcal/100g, (Orok and Bowland, 1974).

Comparando con el valor calórico de otras semillas oleaginosas, el valor encontrado en este estudio para la harina de almendra cruda es alto. Se informa en base seca, 594 Kcal/100g para maní y 454 Kcal/100g para soya (Wu Leung y Flores, 1961); pasando el valor aquí determinado para hule a base seca, resulta 702 Kcal/100g.

El requerimiento diario de energía para un ser humano, de 11 años de edad en adelante, es de 1200-3900 Kcal (National Academy of Sciences, 1980), por lo que se puede decir que la harina de almendra de hule cruda puede ser una buena fuente energética.

E. Contenido de aminoácidos en la harina de almendra de hule.

En el análisis hecho de contenido de aminoácidos en la harina de almendra cocida por media hora y extraída con hexano, se determinaron dieciseis aminoácidos.

En el Cuadro 15 se presenta el contenido de aminoácidos en la proteína de almendra de hule, según lo determinado en éste y en otros estudios. Además, se presenta el nivel de contenido de aminoácidos sugerido para humanos según el Patrón Provisional de FAO, (FAO, 1972).

En el Cuadro 16 se indica el punteo* de aminoácidos de la proteína de almendra de hule, según lo determinado en este estudio y con respecto al Patrón Provisional FAO.

*El punteo de aminoácidos de la proteína de un alimento es el contenido de cada aminoácido presente, expresado como porcentaje del contenido del mismo aminoácido en un patrón escogido. El o los aminoácidos esenciales de menor punteo son llamados aminoácidos aparentemente limitantes de la proteína. (Pellet and Young, 1980).

CUADRO 15
 CONTENIDO DE AMINOACIDOS EN LA PROTEINA DE ALMENDRA DE HULE,
 DE ACUERDO A DIFERENTES INVESTIGADORES, PATRON PROVISIONAL
 FAO DE NIVELES SUGERIDOS PARA HUMANOS. mg/gN

Aminoácido	Presente estudio	Rosal a	Orok y Bowland b	Fetuga <u>et al</u> c	Lauw <u>et al</u> d	Patrón FAO e
Lisina	260	240	225	209	338	340
Histidina	149	110	144	127	---	---
Arginina	452	321	588	640	---	---
Acido aspártico	611	---	700	703	---	---
Treonina	179	151	238	203	175	250
Serina	222	---	300	304	---	---
Acido glutámico	870	---	981	992	---	---
Prolina	407	---	275	268	---	---
Glicina	208	---	275	241	---	---
Alanina	255	---	306	279	---	---
Valina	356	246	500	374	400	310
Metionina	193	104	88	68	44	---
Isoleucina	271	159	238	211	194	250
Leucina	329	170	444	390	419	440
Tirosina	185	---	163	171	163	---
Fenilalanina	253	224	300	309	238	---
Cistina	---	---	181	86	75	---
Triptofano	---	41	---	86	81	65
Azufrados totales	---	---	269	154	119	220
Aromáticos totales	438	---	463	480	401	380

a; (Rosal, 1970); determinación hecha en almendra extraída con hexano, por métodos microbiológicos. Guatemala.

b (Orok and Bowland, 1974); determinación hecha en almendra extraída, por método químico con cromatografía. Nigeria.

c (Fetuga et al, 1977); determinación hecha en almendra cruda, por método químico, con cromatografía.

d (Lauw et al, 1967); determinación hecha en almendra remojada-cocida-extraída con éter de petróleo, por método químico con cromatografía. Estos mismos datos son publicados por

FAO en una tabla de composición de alimentos del Asia del Este.

e (FAO, 1972)

CUADRO 16
 PUNTEO DE AMINOÁCIDOS DE LA HARINA
 DE ALMENDRA DE HULE TRATADA POR
 COCCIÓN Y EXTRACCIÓN CON HEXANO ^a

Aminoácido	Punteo
Lisina	76.5
Treonina	71.6
Valina	114.8
Isoleucina	108.4
Leucina	74.8
Triptofano ^b	----
Azufrados totales ^b	----
Aromáticos totales	115.3

^a En base a determinación de contenido de aminoácidos indicada en los Cuadros 9 y 15 y en base al Patrón Provisional FAO presentado en el Cuadro 15.

^b No se pudo determinar el punteo correspondiente, por no haberse determinado el contenido de triptofano y cistina en la muestra.

De acuerdo con lo presentado en el Cuadro 15 y en el Cuadro 16, el presente estudio indica que los contenidos de valina, isoleucina y aminoácidos aromáticos totales, son aparentemente adecuados en la proteína de almendra de hule, y que los contenidos de treonina, lisina y leucina son aparentemente limitantes, siendo treonina el aminoácido con mayor déficit.

En general, en cuanto a los aminoácidos valina, isoleucina y aromáticos totales, el punteo encontrado en este estudio es semejante al encontrado con lo informado por otros autores; las únicas discrepancias, son en cuanto a isoleucina, que Lauw y colaboradores indican un punteo de 77.6 y Rosal 63.9, y en cuanto a valina, que Rosal indica un punteo de 79.4. (Lauw et al, 1967; Rosal, 1970).

De acuerdo con Rosal y Lauw y colaboradores, treonina tiene también un punteo bajo; sin embargo, según Fetuga y colaboradores, es de 81.2 y según Orok y Bowland, es de 95.2, valores que no son bajos. (Rosal, 1970; Lauw et al, 1967; Fetuga et al, 1977; Orok and Bowland, 1974).

Leucina tiene un punteo más bajo según lo indicado por Rosal, 30.6, no tan bajo según Fetuga y colaboradores, 88.6 y alto según Lauw y colaboradores, 95.2 y Orok y Bowland, 100.9. Lisina tiene un punteo bajo también, de acuerdo con Rosal, Fetuga y colaboradores y Orok y Bowland; sin embargo, es alto según Lauw y colaboradores, 99.4. (Rosal, 1970; Fetuga et al, 1977; Orok and Bowland, 1974; Lauw et al, 1967).

Con la determinación de aminoácidos hecha en el presente estudio, no se le puede dar un punteo ni a triptofano, ni a aminoácidos azufrados totales, pues no se determinó triptofano ni se determinó cistina .

Es importante conocer también el contenido de triptofano y cistina para poder hacer una evaluación más completa de la calidad de la proteína de la almendra de hule; triptofano es un aminoácido esencial y cistina es fuente de azufre para la detoxificación de cianuro, en el organismo.

Comparando el contenido de metionina determinado en el presente estudio, 194mg/gN , con el nivel sugerido por el Patrón FAO para aminoácidos azufrados totales, 220mg/gN , se puede decir que no hay deficiencia marcada para estos aminoácidos, pues el punteo de aminoácidos azufrados totales calculado solo en base al dato de metionina sería 87.7.

Otros autores indican contenidos bastante menores de metionina que lo encontrado en este estudio. Los aminoácidos azufrados totales tienen un punteo muy bajo según Lauw y colaboradores, 54.1, no tan bajo según Fetuga y colaboradores, 70.0, y alto según Orok y Bowland, 122.3. (Lauw et al, 1967; Fetuga et al, 1977; Orok and Bowland, 1974).

En cuanto a triptofano, el punteo resulta alto de acuerdo con Lauw y colaboradores, 124.6 y Fetuga y colaboradores, 132.3 y bajo según Rosal, 63.1. (Lauw et al, 1967; Fetuga et al, 1977; Rosal, 1970).

Se debe tomar en cuenta las diferencias de origen del material analizado y además las diferencias en los tratamientos a que fue sometido, al comparar los contenidos de aminoácidos informados.

Respecto a la determinación de lisina disponible en las distintas harinas de almendra de hule preparadas en este trabajo, los resultados indican un contenido aparentemente menor en la harina de almendra cocida-extraída; ésta presenta un daño del 22% respecto a la harina de almendra cruda. Las otras harinas de almendra recolectada en

tienen un contenido aparentemente igual al de la harina de almendra cruda. Entre los contenidos de las harinas de almendra cocida, de diferente año de recolección, se observa diferencia; esta diferencia probablemente se deba, a que las almendras provienen de distinto origen.

- F. Composición química y valor calórico de las dietas utilizadas para evaluar biológicamente la calidad alimenticia de las distintas harinas de almendra de hule.

Las dietas que se prepararon con caseína o harina de almendra de hule, tuvieron un contenido de proteína cruda cercano al 10%, según lo determinado.

En cuanto al valor calórico, las dietas preparadas se pueden separar estadísticamente en grupos isocalóricos. Los dos grupos principales de dietas isocalóricas son, un grupo de dietas de valor calórico normal, dietas 1, 3 y 11, con un valor promedio de 406 Kcal/100g y un grupo de dietas de valor calórico alto, dietas 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9 y 10, con un valor promedio de 506 Kcal/100g. El trabajar con dietas control de dos niveles calóricos distintos, permitió evaluar dietas con proteína prueba proveniente de harinas completas y dietas con proteína prueba proveniente de harina desgrasada.

El contenido de cianuro total, enlazado y libre en las dietas, fue calculado en base al contenido de ellos en las harinas y al porcentaje de harinas utilizado en la preparación de las dietas. En la preparación de todas las dietas de proteína prueba, con excepción

de las dietas de harina de almendra cocida-extraída, el porcentaje de harina utilizado fue de un 50%. Por la razón anterior, el contenido de cianuro total, enlazado y libre de las dietas de harinas completas, es la mitad del contenido de las respectivas harinas y las relaciones de igualdad o diferencia de esos contenidos en las dietas, son las mismas que en las harinas. En el caso de las dietas de harina de almendra cocida-extraída, el porcentaje de harina fue de un 33%, por tener ésta mayor contenido de proteína; por lo anterior, el contenido de cianuro total, enlazado y libre en las dietas de harina de almendra cocida-extraída, es la tercera parte del contenido de éstos en la harina.

G. Evaluación de la calidad alimenticia de las distintas harinas de almendra de hule.

1. Valores de índice de eficiencia proteínica, PER, y datos relacionados.

De acuerdo con los valores presentados para alimento ingerido, cambio de peso y PER, hay un efecto del valor calórico de la dieta en el alimento ingerido y en el cambio de peso, y no lo hay en el PER. Esto es, comparando los valores obtenidos para la dieta de caseína de valor calórico normal, dieta 1, con los valores obtenidos para la dieta de caseína de alto valor calórico, dieta 2, se observa que los animales en dieta de valor calórico normal, ingirieron más alimento y aumentaron más peso y que los valores de PER obtenidos son iguales. Lo mismo se observa para las dietas de almendra cocida-extraída de distinto valor calórico, dietas 6 y 11.

El valor calórico alto de las dietas con un contenido de aceite de 24%, causa que los animales en esas dietas se sacion ingiriendo menos alimento, que el que ingieren animales en dietas de valor calórico normal, con un 5% de aceite.

Los valores de cambio de peso, alimento ingerido y PER, obtenidos para las dietas de harinas de almendra de hule, se pueden separar estadísticamente en grupos de valores no significativamente diferentes ($p > 0.05$) del siguiente modo:

En cuanto a cambio de peso (g):

	valor promedio del grupo	dietas en el grupo
i.	-6.0	8 y 9
ii.	7.0	8 y 10
iii.	11.9	5, 6, 7 y 10
iv.	14.1	5, 6, 7, y 11

En cuanto a alimento ingerido (g):

i.	110.9	8 y 9
ii.	139.9	5, 7 y 8
iii.	152.5	5, 6, 7 y 10
iv.	192.5	11

En cuanto a PER:

i.	0.57	6, 8 y 10
ii.	0.84	5, 6, 7, 10 y 11

Las dietas 5, 6, 7, 10 y 11 aparecen tanto dentro de los grupos de mayor valor de cambio de peso, como de alimento ingerido y PER. La dieta 8, dieta de harina de almendra remojada-cocida, tiene uno de los valores más bajos de cambio de peso, así como de alimento ingerido y PER. La dieta 9, dieta de harina de almendra cruda, tiene el valor más bajo de alimento ingerido y tiene un cambio de peso negativo.

De acuerdo con lo anterior, las harinas de almendra cruda y almendra remojada-cocida, preparadas en este estudio son de muy baja calidad alimenticia. Las harinas de almendra cocida, almendra cocida-extraída y almendra remojada, preparadas, aunque son de mejor calidad que las anteriores, son de baja calidad en comparación con la caseína. La baja calidad alimenticia de las harinas preparadas se puede deber en parte a calidad proteínica baja, de acuerdo con lo determinado también respecto a contenido de aminoácidos, y en parte a la toxicidad del alimento.

2. Valores de razón proteínica neta, NPR, y datos relacionados.

Al analizar los valores de alimento ingerido y cambio de peso obtenidos a las dos semanas de haberse iniciado la prueba biológica, se observa otra vez el efecto del valor calórico sobre el alimento ingerido y el cambio de peso. Se observa también que no hay diferencia significativa entre los valores de NPR de dietas equivalentes en proteína con distinto valor calórico, esto es entre las dos dietas de caseína y entre las dos dietas de harina de almendra cocida-extraída.

Los valores de NPR se pueden separar estadísticamente en grupos de valores no significativamente diferentes, ($p > 0.05$), para las dietas de harinas de almendra de hule, como se indica a continuación:

	valor promedio del grupo	dietas en el grupo
i.	1.50	6, 8, 9 y 11
ii.	2.00	5, 6, 7, 8, 10 y 11

La dieta 9, dieta de harina de almendra cruda, es la de menor NPR. Las dietas 5, 7 y 10, dietas de harina de almendra cocida (1981), harina de almendra remojada y harina de almendra cocida (1980), tienen los mayores valores de NPR. Las dietas 6, 8 y 11, dietas de harina de almendra cocida-extraída (valor calórico alto), almendra remojada-cocida y almendra cocida-extraída (valor calórico normal), tienen valores intermedios de NPR.

Según lo anterior y lo discutido previamente sobre los valores de PER, las dietas 5, 7 y 10 que dieron mayor valor de NPR, están dentro del grupo con mayor valor de PER. Sin embargo, al relacionar los valores de PER con los de NPR, para todas las dietas de harinas de almendra de hule, se encuentra que PER y NPR no están de acuerdo en cuanto a la calificación relativa del valor alimenticio de las distintas harinas de almendra de hule. (Relación lineal entre PER y NPR encontrada:
 $PER = 0.39 \text{ NPR} - 0.02 \quad r^2 = 0.33.$)

3. Observaciones hechas a lo largo de las ocho semanas de evaluación biológica.

Es muy marcada la diferencia de crecimiento e ingesta de los animales en dietas de proteína de almendra de hule y los animales en dietas de caseína. Esta marcada diferencia indica en general, una baja calidad alimenticia de las harinas de almendra de hule, debida a la baja calidad de su proteína y probablemente también debida a toxicidad del alimento. La proteína es de baja calidad, sobre todo por ser deficiente en treonina,

leucina y lisina, de acuerdo con lo determinado respecto a contenido de aminoácidos en una de las harinas.

Al cabo de siete semanas de experimentación, los animales en dietas de harinas de almendra de hule, de valor calórico normal, aumentaron cerca del 23% de lo que aumentaron en peso los animales en dieta de caseína y valor calórico normal; la comparación correspondiente para los animales en dietas de alto valor calórico indican un aumento de cerca del 14% del aumento del grupo de animales control.

En cuanto a alimento ingerido, al cabo de las mismas siete semanas, los animales en dietas de harina de almendra de hule de valor calórico normal, ingirieron cerca del 50% de lo que ingirieron los animales en dieta de caseína y valor calórico normal y los animales en dietas de valor calórico alto ingirieron cerca del 45% de lo que ingirieron los animales control.*

Según lo informado en la literatura, cuando la proteína prueba no tiene un contenido balanceado de aminoácidos, la rata en la dieta con esa proteína, ingiere menor cantidad de alimento y por lo mismo, en parte, tiene menor aumento de peso, que cuando la rata se está alimentando con una proteína balanceada. Aún es más, en algunos casos la rata ingiere más alimento de una dieta libre de proteína, que de una dieta con proteína no balanceada. En ciertos casos, las ratas después de un tiempo se adaptan a ingerir proteína con aminoácidos no balanceados y pueden llegar a aumentar de peso a la misma velocidad que el grupo control. Las observaciones hechas respecto a este fenómeno desbalance- ingesta indican que las alteraciones en el contenido patrón

*El fenómeno de saciarse ingiriendo menos alimento cuando éste es de alto contenido de grasa, se debe a que en la digestión del alimento, las grasas son las últimas en dejar el estómago. (West et al, 1969)

de aminoácidos en el plasma sanguíneo están relacionadas con cambios en la ingesta y preferencia de alimentos. (National Academy of Sciences, 1974).

En el presente estudio se dio el caso que los animales en dietas de harinas de hule ingirieron menos alimento que los animales en dietas control de caseína. También sucedió que los animales en dietas de harinas de hule, con excepción de los animales en dieta de harina de almendra cruda, ingirieron más alimento que los animales en dietas libres de proteína.

La baja ingesta de alimento en las dietas de harinas de almendra de hule probablemente se debe, además de a la baja calidad de la proteína, a la toxicidad del alimento.

A lo largo de ocho semanas de experimentación se registró mortalidad de animales en dos de las dietas de harinas de almendra de hule, dieta de harina de almendra cruda, dieta 9, y dieta de harina de almendra remojada-cocida, dieta 8. En el caso de la primera dieta mencionada, la mortalidad fue de 25% de los animales y en el caso de la segunda dieta, fue de 62,5% de los animales. La dieta de harina de almendra cruda, tenía mayor contenido de cianuro enlazado y libre que la dieta de harina de almendra remojada-cocida; además, la primera probablemente contenía linamarasa activa capaz de aumentar el contenido de cianuro libre, y la segunda tenía desactivada la linamarasa.

En base a los datos de contenido de cianuro total y libre en las dietas y a los datos de alimento ingerido promedio de cada dieta, se puede calcular un valor estimado de ingesta de

cianuro promedio al día, para los animales de cada dieta. Los valores estimados en base al valor promedio de alimento ingerido por día, durante las ocho semanas, se presentan en el Cuadro 17.

En base a los valores estimados y a que la dosis letal media de cianuro para una rata de 50 g. de peso es cercana a 0.025 mg., se puede decir, que la mayoría de animales, aparentemente ingirió durante un día, cantidades de cianuro total mayores que la dosis letal media y cantidades de cianuro libre mayores o iguales a la dosis letal media. El valor de cianuro total ingerido por día, estimado para la dieta de almendra cruda, es igual al estimado para la dieta de almendra remojada-cocida, pero el valor de cianuro libre es mayor, para la primera.

Tomando en cuenta los valores estimados de ingesta de cianuro al día y tomando en cuenta que los contenidos de lisina disponible en las dietas, no son muy diferentes, no se puede explicar por qué hubo mayor mortalidad en el grupo de animales en dieta de harina de almendra remojada-cocida, que en el grupo de animales en dieta de harina de almendra cruda. Tampoco se puede explicar por qué hubo mortalidad en el grupo de almendra remojada-cocida y no lo hubo en los grupos de almendra remojada y almendra cocida (1981), que ingirieron cantidades de cianuro total y libre, aparentemente mayores o iguales que las ingeridas por el grupo de almendra remojada-cocida.

Aunque el contenido de lisina disponible en las harinas preparadas no revele un daño en el caso de la harina de almendra remojada-cocida, es probable que ese tratamiento haya causado algún otro daño en la calidad de la proteína, y que a ello se deban los malos resultados obtenidos en su evaluación biológica.

CUADRO 17

VALORES ESTIMADOS, DE INGESTA DIARIA DE CIANURO, PARA LOS ANIMALES ALIMENTADOS CON DIETAS DE HARINAS DE ALMENDRA DE HULE, EN LA EVALUACION BIOLOGICA DE ESTAS HARINAS. a

Dieta (harina de almendra:)	Cianuro/día mg	
	Total	Libre
5 (cocida, 1981)	1.9	0.03
6 (cocida-extraída)	0.8	0.3
7 (remojada)	1.3	0.3
8 (remojada-cocida)	1.3	0.03
9 (cruda)	1.3	0.1
10 (cocida, 1980)	0.2	0.02
11 (cocida-extraída)	1.0	0.04

a Valores estimados en base al contenido de cianuro en las dietas, y al promedio del alimento ingerido diariamente por los animales de cada grupo.

Los problemas de orina anormal y caída de pelo observados en algunos de los animales en dietas de harinas de almendra de hule, pueden deberse a la pobre calidad de la proteína, tomando en cuenta que los mismos problemas se observaron en las dietas libres de proteína y no se observaron en las dietas de caseína.

En general, los resultados obtenidos en la presente evaluación biológica, indican que la almendra de hule cruda utilizada es de mala calidad alimenticia y que su calidad mejoró al someterla a tratamientos de media hora de cocción, veinte horas de remojo o media hora de cocción y extracción del aceite con hexano. También indican, que el tratamiento de veinte horas de remojo y media hora de cocción no contribuyó a mejorar la calidad alimenticia de la almendra de hule, a pesar de haber sido bastante efectivo para disminuir el contenido de cianuro enlazado y libre, en ella.

Comparando los resultados obtenidos en este estudio con resultados obtenidos por otros autores, acerca del valor alimenticio de la almendra de hule, tenemos lo siguiente:

Rosal (Rosal, 1970) informa sobre evaluación biológica hecha con una dieta, de 10% de proteína de harina de almendra de hule extraída con hexano, y un contenido de 5% de aceite de soya. Señala, para ratas alimentadas con esa dieta por cuatro semanas, un cambio de peso de 14 g., un alimento ingerido de 236 g. y un valor de PER de 0.64. Indica un contenido de cianuro en la harina utilizada igual a 0.75 mg/100g. Comparando estos resultados con los obtenidos en el presente estudio, para la dieta

de harina cocida-extraída con hexano, de valor calórico normal, dieta 11, vemos que los valores de Rosal para PER y cambio de peso, son levemente menores y el de alimento consumido es mayor.

Fetuga y colaboradores (Fetuga et al, 1977), informan sobre evaluación hecha con dietas de, 10% de proteína de harina de almendra cruda y de harina de almendra extraída con éter de petróleo, y con un contenido de 10% de aceite de maní. Señalan para ratas alimentadas con esas dietas, por dos semanas, valores de cambio de peso, proteína ingerida y PER, de acuerdo con lo siguiente:

para la dieta de harina de almendra cruda, un cambio de peso de 7.42 g., proteína ingerida, 8.83 g. y un valor de PER de 0.84.; para la dieta de harina de almendra extraída, un cambio de peso de -8.66 g., proteína ingerida, 6.71 g. y un valor de PER negativo de -1.29.

No podemos comparar lo informado por estos autores con lo obtenido en el presente estudio sobre valores de PER, pues fue distinto el tiempo de evaluación, y fue distinto el contenido de aceite en las dietas. Haciendo una comparación en términos generales, se observa que los resultados obtenidos por estos autores fueron opuestos a los que se obtuvieron en el presente estudio, en el sentido de que en el presente caso, la harina de almendra tratada por cocción y extracción de aceite con hexano dio mejores resultados que la almendra cruda.

Lauw y colaboradores, (Lauw et al, 1967) informan sobre evaluación hecha con dietas, con 5, 10 y 20% de proteína de almendra remojada-cocida-prensada-extraída con éter de petróleo

y con un contenido de 10% de aceite de almendra de hule y/o aceite de algodón. Señalan que no hubo evidencia de toxicidad durante las cuatro semanas de experimentación, siendo el contenido de cianuro en la harina utilizada de 3.4 mg/100g., e indican para ratas los siguientes resultados:

para una dieta con 5% de proteína, un cambio de peso de 5.2 g. y un PER de 0.9; para una dieta con 10% de proteína, un cambio de peso de 39.0 g. y un PER de 2.0; para una dieta con 20% de proteína, un cambio de peso de 55.0 g. y un PER de 1.4.

El valor de PER obtenido para la dieta con 10% de proteína, es muy alto en comparación con los obtenidos en éste y otros estudios para harinas de almendra extraída y harinas de almendra de hule en general.

Se puede ver que en general, los resultados obtenidos en la presente evaluación son comparables únicamente con los obtenidos por Rosal (Rosal, 1970).

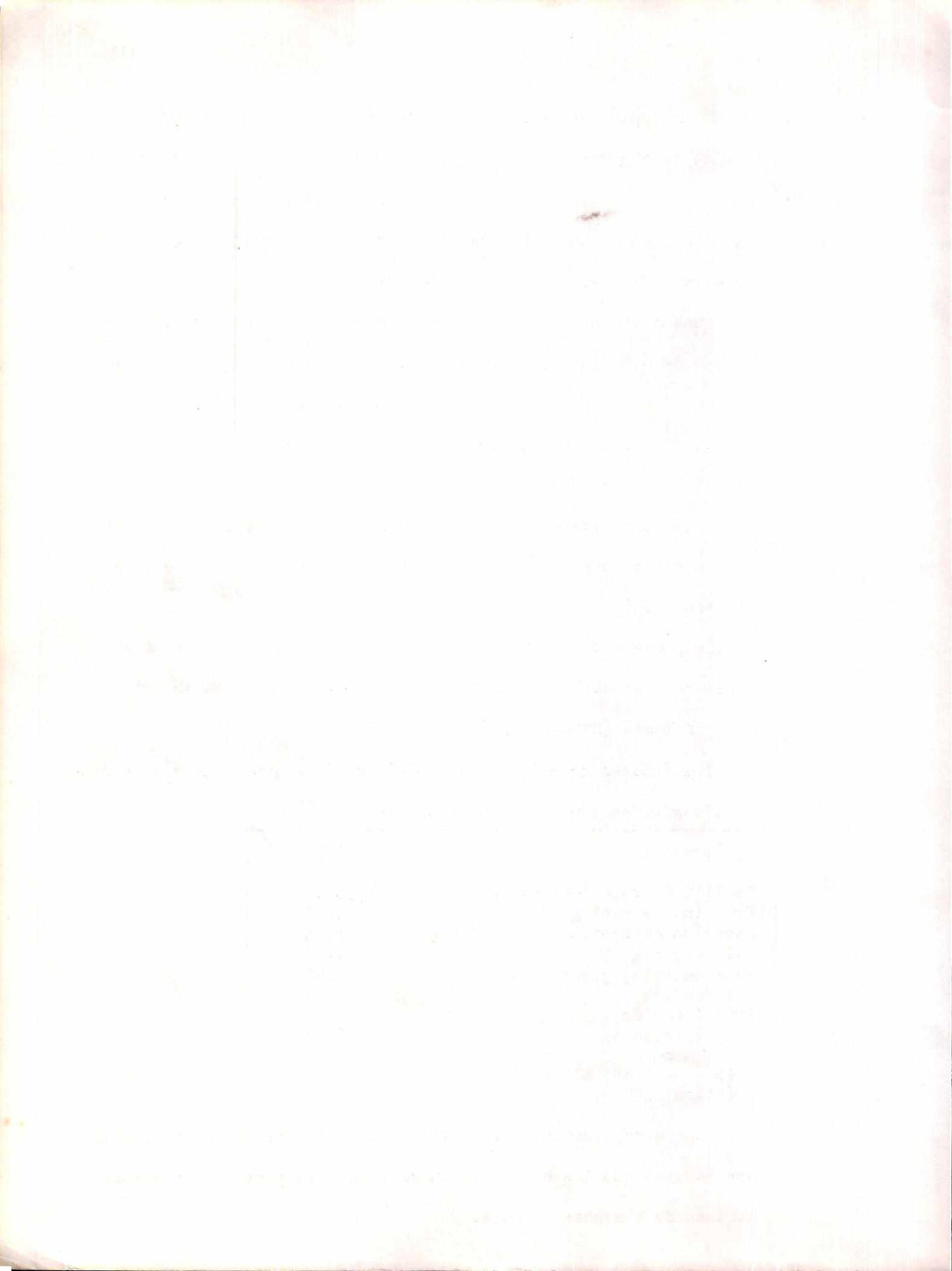
Los índices de eficiencia proteínica de algunas otras almendras de oleaginosas y otros alimentos, son:

producto	PER
Semilla de soya tostada ^a	1.75-1.95
Proteína de maní ^a	1.62
Proteína de semilla de algodón ^a	1.95
Maíz crudo ^b	1.38
Masa de maíz, proceso casero ^b	1.65
Frijol crudo ^b	---
Frijol cocido ^b	1.24
Frijol frito ^b	0.87

^a (Bressani and Elías, 1968).

^b (Elías, 1976).

Con excepción del frijol frito, los valores de PER indicados son mayores que los obtenidos en este estudio para las distintas harinas de almendra de hule.



VIII. CONCLUSIONES

La almendra de semilla de hule tiene un contenido de lípidos alto, un valor calórico alto, y un contenido de proteína bajo, en comparación con almendras de otras oleaginosas como maní, soya y algodón.

La almendra de semilla de hule es una buena fuente energética y una buena fuente de fósforo, hierro, valina, isoleucina, fenilalanina y tirosina. Es una fuente pobre de treonina, leucina y lisina.

La almendra de semilla de hule contiene cianuro en forma libre y cianuro en forma enlazada. El cianuro en forma enlazada pasa a forma libre por acción de linamarasa exógena obtenida de yuca, lo cual confirma la presencia del cianuro enlazado como linamarina, en la almendra.

La almendra fresca de semilla de hule tiene un contenido de cianuro total, que es peligroso si ésta es ingerida. Este contenido de cianuro total es de 130-230 mg/100g y es alto en comparación al informado para raíz de yuca y para ciertas variedades de frijol lima. Del contenido de cianuro total indicado para la almendra fresca, el 94% es cianuro enlazado y el 6% es cianuro libre.

El tratamiento combinado de veinte horas de remojo y una hora de cocción de la almendra de hule fraccionada, es más efectivo para disminuir su contenido de cianuro enlazado y cianuro libre, que los tratamientos de veinte horas de remojo, una hora de cocción y treinta minutos de cocción seguidos por cuatro horas de extracción con hexano.

El tratamiento de veinte horas de remojo y el tratamiento de treinta minutos de cocción-cuatro horas de extracción con hexano, de la almendra de hule fraccionada, tienen efectividad semejante para reducir su contenido de cianuro enlazado. El primero no es efectivo para reducir el contenido de cianuro libre y el segundo, sí lo es.

El tratamiento de una hora de cocción de la almendra de hule fraccionada es muy efectivo para reducir su contenido de cianuro libre y poco efectivo para reducir su contenido de cianuro enlazado.

Es esencial fraccionar la almendra de hule antes de someterla a cualquier tratamiento que pretenda disminuir su contenido de cianuro enlazado y libre, para lograr máxima efectividad.

El contenido de cianuro total en la almendra de semilla de hule, disminuye durante el tiempo que la semilla se mantiene almacenada, por procesos naturales de hidrólisis de cianuro enlazado y eliminación de cianuro libre.

Al extraer con hexano el aceite de harina de almendra de hule cocida, se obtienen dos productos de posible utilidad, aceite y harina desgrasada. La harina así obtenida tiene mayor contenido de proteína y menor contenido de cianuro enlazado que la harina original.

Los tratamientos de veinte horas de remojo, veinte horas de remojo-treinta minutos de cocción y treinta minutos de cocción de la almendra de hule, no afectan la disponibilidad de la lisina en las harinas así preparadas.

El tratamiento de treinta minutos de cocción-extracción con hexano, sí afecta la disponibilidad de la lisina en la harina así preparada.

La almendra de hule cruda es de mala calidad alimenticia, causa deterioro y muerte de ratas alimentadas con dietas que la contienen como fuente total de proteína y aceite, a un nivel de 10% de proteína.

La calidad alimenticia de la almendra de hule mejora al someterla a tratamientos de treinta minutos de cocción, veinte horas de remojo o treinta minutos de cocción y extracción de aceite con hexano. Almendra sometida a cualquiera de los tratamientos anteriores, no causa muerte y permite cierto grado de crecimiento en ratas alimentadas con dietas que la contienen, como fuente total de proteína y fuente total o parcial de aceite, a un nivel de 10% de proteína. Al hacer evaluación biológica con ratas, de las dietas mencionadas anteriormente, con un contenido de 24% de aceite, se obtienen valores de PER, cambio de peso y alimento ingerido equivalentes, y en promedio iguales a 0.89, 12.5 g. y 151.7 g., respectivamente.

La calidad alimenticia de la almendra de hule no mejora al someterla a tratamiento combinado de veinte horas de remojo y media hora de cocción, a pesar de que este tratamiento es bastante efectivo para disminuir el contenido de cianuro enlazado y cianuro libre en la almendra. Almendra sometida a este tratamiento causa deterioro y muerte a algunas de las ratas alimentadas con una dieta que la contiene, como fuente total de proteína y aceite, a un nivel de 10% de proteína.

Algunos de los resultados obtenidos en el presente trabajo difieren bastante de los informados por otros autores, especialmente en cuanto a contenido de aminoácidos en la almendra y en cuanto a respuestas obtenidas en la evaluación biológica de distintas harinas de almendra de hule. La discrepancia encontrada en contenido de aminoácidos, puede deberse en parte a diferencias naturales entre las muestras analizadas y a diferencias debidas al tratamiento distinto a que fue sometida cada una de las muestras analizadas. Las discrepancias en las evaluaciones biológicas, pueden deberse a diferencias de tratamiento de la almendra y a diferencias en la toxicidad del material utilizado.

IX. SUGERENCIAS PARA ESTUDIO FUTURO

En base a los resultados obtenidos en el presente estudio, a incógnitas que quedan sobre el tema y a problemas que se presentaron en el desarrollo de este trabajo, se sugiere investigar en estudios futuros, los siguientes aspectos:

Determinar el contenido de triptofano y cistina en la harina de almendra de hule cocida-extraída y calcular su punteo.

Determinar las razones por las cuales el tratamiento combinado de veinte horas de remojo y treinta minutos de cocción, no fue efectivo para mejorar la calidad alimenticia de la almendra de hule. Para ello, tomar en cuenta que este tratamiento resultó ser uno de los más efectivos, entre los probados en este estudio, para disminuir el contenido de cianuro libre y cianuro enlazado en la almendra. También tomar en cuenta que el tratamiento de veinte horas de remojo y el tratamiento de treinta minutos de cocción, efectuados por separado, sí mejoraron la calidad alimenticia de la almendra.

Determinar las condiciones necesarias para lograr en la extracción del cianuro enlazado y libre, de la almendra y las harinas de almendra de hule, un extracto claro, que no presente ningún problema en la determinación de cianuro por el método de Cooke, (ver Apéndice A).

Estudiar el efecto del almacenamiento de semilla de hule entera, en el contenido de cianuro enlazado y libre y en el valor alimenticio de la almendra.

Cuantificar linamarina como tal, en la almendra de hule y comparar el resultado obtenido, con aquel que se obtenga de calcular contenido de linamarina en base al contenido de cianuro enlazado, determinado por el método de Cooke. Comprobar si linamarina es el único glicósido cianogénico presente en la almendra de hule.

Hacer pruebas de evaluación biológica, en las que harina de almendra, de bajo contenido de cianuro enlazado y libre, se suplemente con los aminoácidos aparentemente limitantes en ella. Posteriormente, hacer pruebas de evaluación biológica, en las que harina de almendra de hule, de bajo contenido de cianuro enlazado y libre, se utilice para suplementar otros alimentos. Sería recomendable también, realizar pruebas específicas para determinar el nivel de toxicidad del mencionado material.

Hacer pruebas de evaluación biológica, en las que el aceite de almendra de hule, sea la fuente de aceite de las dietas; de este modo determinar su valor alimenticio.

X. BIBLIOGRAFIA

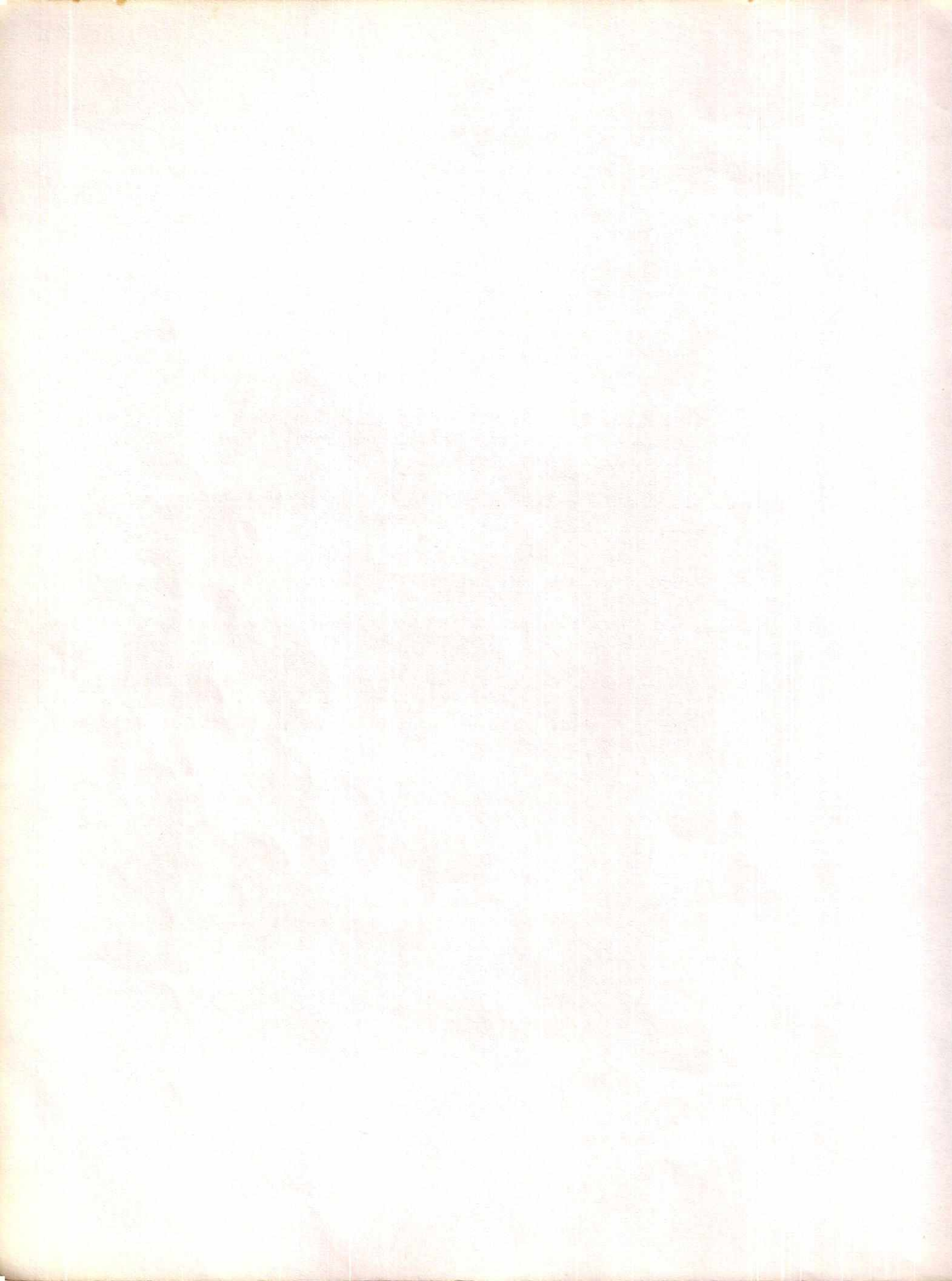
- American Oil Chemists' Society. Official and tentative methods. 3r. Ed. 1973 Ill., U.S.A.
- Ammerman, G. R. Food Safety. I.F.T. Short Course Committee. U.S.A. 1975 p. 25.
- Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 12th. Ed. 1975 Washington, D.C., U.S.A.
-
- 1980 Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 13th. Ed. Washington, D.C., U.S.A.
- Auld, S. J. M. "Digestibility experiments with sheep. Para rubber seed 1912-3 cake." J. Agr. Sci. 5, 429-33.
- Banco de Guatemala. Situación Nacional e Internacional del hule natural, sus perspectivas y conveniencias de establecer un nuevo programa de fomento. Informe Económico. Año XXV. Oct.-Dic. Guatemala. 73 p.
- Bourdet, A. E. Memoria de labores de la Gremial de Huleros de Guatemala, correspondiente al año 1980. Guatemala. 1981
- Bourdoux, P., M. Mafuta, A. Hanson and A. M. Ermans. "Cassava toxicity; the role of linamarin." In: Role of cassava in the etiology of endemic goitre and cretinism. Editors: A. M. Ermans, N. M. Mbulamoko, F. Delange and R. Ahluwalia. International Development Research Centre. Canada. Chapt. 1, pp. 15-27. 1980
- Bressani, R. and L. G. Elías. "Processed vegetable protein mixtures for human consumption in developing countries." In: Advances in Food Research. Vol. 16. Editors: C. O. Chichester, E. M. Mraak and G. F. Stewart. Academic Press. U.S.A. pp. 1-103. 1968
- Butler, G. W. "The distribution of the cyanoglucosides linamarin and lotaustralin in higher plants." Phytochem. 4, 127-31. 1965
- _____, R. W. Bailey and L. D. Kennedy. "Studies on the glucosidase "linamarase"." Phytochem. 4, 369-81. 1965
- _____, P. F. Reay and B. A. Trapper. "Physiological and genetic aspects of cyanogenesis in cassava and other plants." In: Chronic cassava toxicity; proceedings of an interdisciplinary workshop, London, England. International Development Research Centre. Monography. pp. 65-71. 1973
- Carpenter, K. J. "The estimation of the available lysine in animal-protein foods." Biochem. J. 77, 604-10. 1960

- Conn, E. E. "Cyanogenic glycosides." J. Agr. Food Chem. 17(3), 1969 519-26.
- _____ and G. W. Butler. "The biosynthesis of cyanogenic glycosides and other simple nitrogen compounds." In: Perspectives in Phytochemistry. Editors: J. B. Harborne and T. Swain. Academic Press, Inc. London. Chapt. 2, pp. 47-74.
- 1969
- _____ "Cyanogenic glycosides." In: Toxicants occurring naturally in food. National Academy of Sciences. 2nd. Ed. Washington, D.C., U.S.A. pp. 299-308.
- 1973
- Cooke, R. D. "An enzymatic assay for the total cyanide content of cassava (Manihot esculenta Crantz)." J. Sci. Fd. Agric. 29, 345-52.
- 1978
- _____, G. G. Blake and J. M. Battershill. "Purification of cassava linamarase." Phytochem. 17, 381-3.
- 1978
- _____ and E. N. Maduagwu. "The effects of simple processing on the cyanide content of cassava chips." J. Fd. Technol. 13, 299-306.
- 1978
- _____ "Ensayo enzimático para determinar el contenido de cianuro en las raíces y en los productos derivados de la yuca." Editores: T. Brekelbaum y G. Gómez. Centro de Información sobre la Yuca, Centro Internacional de Agricultura Tropical, CIAT. Serie O5SC-6. Colombia. 14 p.
- 1979
- Delange, F., R. Vigneri, F. Trimarchi, S. Filetti, V. Pezzino, S. Squatrito, P. Bourdoux and A. M. Ermans. "The iodine/thiocyanate ratio." In: Role of cassava in the etiology of endemic goitre and cretinism. Editors: A. M. Ermans, N. M. Mbulamoko, F. Delange and R. Ahluwalia. International Development Research Centre. Canada. Chapt. 13, pp. 143-5.
- 1980
- Dreisbach, R. H. Handbook of Poisoning: Prevention, Diagnosis and Treatment, 10th. Ed. Lange Medical Publications, U.S.A. pp. 246-8.
- 1980
- Elías, L. G. Evaluación nutricional de la torta y del aceite de la semilla de hule. Segunda Reunión Centroamericana en tecnología de aceites, grasas y proteínas. ICAITI. Presentación IV-I. Guatemala.
- 1971
- _____ "Algunos aspectos bioquímicos y nutricionales del maíz y del frijol." En: Notas sobre los cursos de producción de maíz y frijol. Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria-IICA-AID. Editor: Heleodoro Miranda M. El Salvador. pp. 1-44.
- 1976
- Epstein, J. "Estimation of microquantities of cyanide." Anal. Chem. 19, 272-4.
- 1947
- Ermans, A. M. "General Conclusions." In: Role of cassava in the etiology of endemic goitre and cretinism. Editors: A. M. Ermans, N. M. Mbulamoko, F. Delange and R. Ahluwalia. International Development Research Centre. Canada. Chapt. 14, pp. 147-52.
- 1980

- Escobar, R. Enciclopedia Agrícola y de Conocimientos Afines, México. Tomo I. pp. 679-80. (sin fecha)
- Fetuga, B. L., T. O. Ayeni, A. Olaniyan, M. A. Balogun, G. M. Babatunde and 1977 V. A. Oyenuga. "Biological evaluation of Para-rubber seeds (Hevea brasiliensis)." Nutrition Reports International. 15(15), 497-510.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations, U.S. Department 1972 of Health, Education and Welfare, Health Services and Mental Health Administration. Food Composition table for use in East Asia. U.S.A. p. 212.
- Hegsted, D. M., R. C. Mills, C. A. Elvehjem and E. B. Hart. "Choline in 1941 the nutrition of chicks." J. Biol. Chem. 138, 459-66.
- Hill, A. F. Economic Botany. 1st. Ed. McGraw-Hill Book Co. Inc. U.S.A. 1937 Chapt. VI. pp. 143-57.
- Himwich, Williamina A. and J. P. Saunders. "Enzymatic conversion of 1948 cyanide to thiocyanate." Am. J. Physiol. 153, 348-54.
- Joachim, A. W. R. and D. G. Pandettesekere. Trop. Agriculturist. 100, 1944 150. Citado por Cooke, R. D. and E. N. Maduagwu. "The effects of simple processing on the cyanide content of cassava chips." J. Fd. Technol. (1978), 13, 299-306.
- Labianca, D. "On the nature of cyanide poisoning." J. Chem. Ed. 56(12), 1979 788-91.
- Lauw Tjin Giok, Samsudin, Husaini and Ignatius Tarworjo. "Nutritional va- 1967 lue of rubber seed protein." Am. J. Clin. Nutr. 20(12), 1300-3.
- Liener, I. E. "Cyanogenic glycosides." In: Toxicants occurring naturally 1966 in foods, National Academy of Sciences. Publ. 1354. U.S.A. pp. 58-61.
- Lottmann, J. G. Extracción y caracterización del aceite de la semilla de 1982 hule Hevea brasiliensis, Trabajo de graduación; Facultad de Ciencias y Humanidades, Departamento de Química, Universidad del Valle de Guatemala.
- Manna, L. and S. M. Hauge. "A possible relationship of Vitamin B₁₂ to 1953 orotic acid." J. Biol. Chem. 202, 91-6.
- Montgomery, R. D. "Observations on cyanide content and toxicity of trop- 1964 pical pulses." W. I. Med. J. 13, 1-11.
- 1965 "The medical significance of cyanogen in plant food- stuffs." In: Perspectives in nutrition, Amer. J. Clin. Nutr. 17, 103-13.
- 1980 "Cyanogens." In: Toxic constituents of plant food- stuffs. 2nd. Ed. Academic Press, Inc. U.S.A. pp. 143-57.

- National Academy of Sciences. Improvement of Protein Nutriture.
1974 Food and Nutrition Board. National Research Council. National Academy of Sciences. U.S.A. pp. 150-2.
-
- Recommended Dietary Allowances. Food and
1980 Nutrition Board. National Research Council. National Academy of Sciences. U.S.A. 128 p.
- Neucere, N. J. and R. L. Ory. "Effect of organic solvents on the pro-
1968 teins extracted from peanuts." J. Agr. Food Chem. 16(2),
364-5.
- Oke, O. L. "Toxicity of cyanogenic glycosides." Food Chem. 6, 97-
1980-1 109.
- Okigbo, B. N. "Nutritional implications of projects giving high priority
1980 to the production of staples of low nutritive quality; the case
for cassava (Manihot esculenta Crantz) in the humid tropics of
West Africa." Food and Nutrition Bulletin, U.N.U. 2(4), 1-10.
- Orok, E. J. and P. Bowland. "Nigerian Para rubber seed meal as an energy
and protein source for rats fed soybean meal-or peanut meal-
supplemented diets." Can. J. Anim. Sci. 54, 239-46.
- Ovalle, C. A. Manual de Cultivo del hule Hevea en Guatemala. Sector
1975 Público Agrícola, Ministerio de Agricultura, DIGESA, Guatemala.
102 p.
- Pellet, P. L and V. R. Young. Nutritional Evaluation of Protein Foods.
1980 The U.N.U. World Hunger Programme. Food and Nutrition Bulletin
Supplement 4. U.N.U. pp. 104-5.
- Polhamus, Loren G. Rubber: botany, production, utilization. World Crop
1962 Series. General Editor: N. Polunin, U.S.D.A. Leonard Hill-
Interscience. Great Britain. 449 p.
- ✓ Rosal, O. R. Determinación del valor nutritivo de la torta de semilla
1970 de hule. Facultad de Ingeniería, Universidad de San Carlos de
Guatemala. Guatemala. 31 p.
- Shoemaker, D. P., C. W. Garland and J. I. Stenfeld. Experiments in Phy-
1974 sical Chemistry. 3rd. Ed. McGraw-Hill Book Company. U.S.A.
pp. 51-5.
- Siegler, D. S. "Isolation and characterization of naturally occurring
1975 cyanogenic compounds." Phytochem. 14, 9-29.
- Snedecor, G. W. and W. G. Cochran. Statistical Methods. 7th. Ed. The
1980 Iowa State University Press. U.S.A. pp 215-54.

- Stryer, L. Bioquímica. Traductor: M. Rosell P. Editorial Reverté Venezolana, S. A. Caracas, Venezuela. pp. 336-41.
1976
- Tewe, O.O., J. H. Maner and G. Gómez. "Influence of cassava diets on placental thiocyanate transfer, tissue rhodanese activity and performance of rats during gestation." J. Sci. Fd. Agric. 28, 750-6.
1977
- ✓ UTEHA. Enciclopedia de Tecnología en Química. Tomo I. la. ed. en español. 1961 UTEHA, México. p. p26.
- Viswanathan, T. V., C. R. Ananthasubramanian and Maggie Manachery. "Evaluation of rubber (Hevea brasiliensis) seed cake for promoting growth in calves." Indian J. Nutr. Diet. 16, 383-9.
1979
- West, E. S., W. R. Todd, H. S. Mason y J. T. van Bruggen. Bioquímica Médica. Traductores: María Teresa Toral y F. Colchero. A. Editorial Interamericana, S. A. 4a. Ed. p. 382.
1969
- Wood, J. L. and Shirley Cooley. "Detoxication of cyanide by cystine." 1956 J. Biol. Chem. 218(1), 449-57.
- Wood, T. "The cyanogenic glucoside content of cassava and cassava products." J. Sci. Fd. Agric. 16, 300-5.
1965
- _____ "The isolation, properties and enzymic breakdown of linamarin from cassava." J. Sci. Fd. Agric. 17, 85-90.
1966
- Wu Leung, Woot-Tsuen y Marina Flores. Tabla de Composición de alimentos para uso en América Latina. Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá- Comité Interdepartamental de Nutrición para la Defensa Nacional, EUA. pp.60-1.
1961



APENDICE A

Método de Cooke para la determinación de cianuro total y libre; utilización de este método en el análisis de almendra y harinas de almendra de semilla de hule Hevea brasiliensis.

1. Método de Cooke para determinación de cianuro total y libre.

R. D. Cooke ha presentado en varias publicaciones (Cooke, 1978; Cooke, 1979) un método para determinar contenido de cianuro total y libre en raíz y productos derivados de yuca. En este método se especifica cómo extraer de la muestra el cianuro libre y los glicósidos cianogénéticos presentes, cómo obtener β -glicosidasa de cáscara de yuca y con ella producir la hidrólisis de los glicósidos cianogénéticos, extraídos de la muestra y cómo cuantificar el cianuro total y libre en la muestra.

Ya que, según lo reportado en la literatura, el glicósido cianogénico que está presente en la semilla de hule Hevea brasiliensis, es linamarina (Butler, 1965), y que los glicósidos cianogénéticos presentes en la yuca, cuyo cianuro es cuantificable por el método de Cooke, son linamarina y lotaustralina, se pueden utilizar las bases del método de Cooke, para determinar cianuro total y libre en almendra y productos de almendra de semilla de hule Hevea brasiliensis.

El método de Cooke para la detrmnación de cianuro total y libre, se puede dividir en cuatro partes;

a. Obtención de la β -glicosidasa linamarasa a partir de cáscara de yuca. La enzima se extrae y purifica, para después utilizarla para producir hidrólisis completa y cuantitativa de los glicósidos cianogénéticos. La enzima conservada congelada en solución, conserva en un alto grado su actividad.

b. Determinación de la actividad de la linamarasa obtenida.

Para poder utilizar la linamarasa en las determinaciones de cianuro total, es necesario conocer su actividad, pues en base a la actividad, se decide cuánta enzima es necesaria para producir una hidrólisis completa de los glicósidos cianogénéticos presentes en la alícuota de extracto a analizar. La actividad de la enzima se determina haciendo reaccionar por un cierto tiempo, una cantidad conocida de enzima con una cantidad en exceso de linamarina, y luego cuantificando el cianuro resultante de esa reacción de hidrólisis. La actividad de la linamarasa se expresa en UI/ml = μ moles de linamarina hidrolizados/min.ml. o en nkat/ml = nmoles de linamarina hidrolizados/seg.ml.

c. Extracción del cianuro libre y los glicósidos cianogénéticos presentes en la muestra.

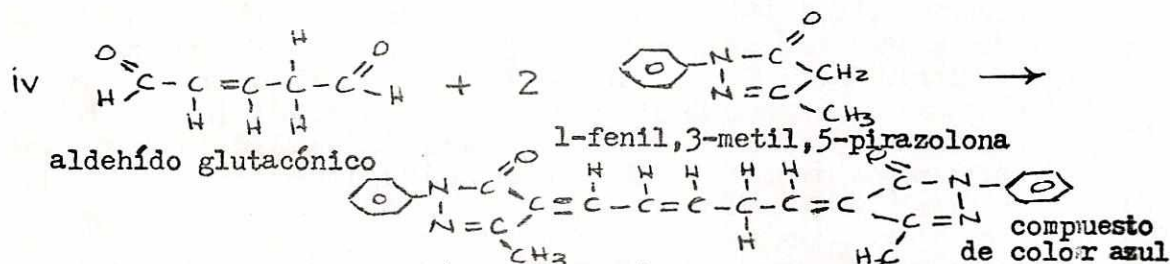
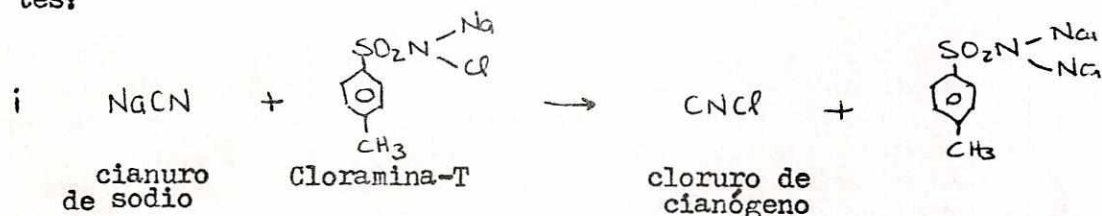
La muestra se extrae, homogenizándola en una solución ácida. De este modo, se inactiva la linamarasa endógena y se disuelven los glicósidos cianogénéticos y el cianuro libre. El extracto es estable por alrededor de cuatro días, si se almacena en recipiente hermético a 4 °C.

d. Determinación de cianuro total y libre en los extractos de las muestras.

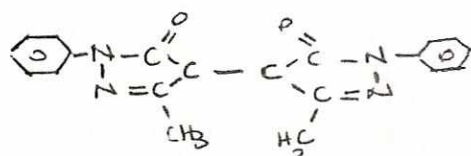
Para determinar el cianuro total, una alícuota del extracto se incuba con cierta cantidad de enzima a un pH y temperatura adecuados, por un tiempo dado. Para determinar el cianuro libre, no se utiliza enzima.

La cuantificación del cianuro se hace por el método espectrofotométrico de la reacción con Cloramina-T, piridina y 1-fenil,3-metil,5-pirazolona. Este método consiste en hacer reaccionar el cianuro con Cloramina-T, formándose cloruro de cianógeno; y luego mezclar con este cloruro de cianógeno una solución de bispirazolona y 1-fenil,3-metil,5-pirazolona, para formar así un compuesto de color azul; esta solución, mencionada de último, está en piridina, que también reacciona. El compuesto de color azul cumple la ley de Beer-Lambert a 620 mμ, dentro de un rango de concentración dado.

Las reacciones para el desarrollo del color azul son las siguientes:



La bispirazolona, es la 3,3'-dimetil,1,1'-difenil-(4,4'-bi-2-pirazolina)-5,5'-diona y funciona en el final de la reacción como un estabilizador del compuesto de color azul; la estructura de este compuesto es:



(Epstein, 1947).

2. Utilización del método de Cooke en el análisis de almendra y harinas de almendra de semilla de hule.

En el presente estudio de la composición química y el valor alimenticio de la almendra de hule, se utilizaron las bases del método de Cooke para la determinación de cianuro total y libre. El procedimiento recomendado en el método se siguió, con pequeñas modificaciones. En general, se obtuvieron resultados satisfactorios; hubo algunos problemas de extracción de los glicósidos cianogenéticos y el cianuro libre, y éstos tendrán que ser estudiados a fondo, para encontrarles solución y con ello mejorar el aspecto práctico del método y el aspecto de exactitud y precisión. Aparentemente estos problemas de extracción no se dan en el caso en que se trabaje con yuca y productos de ella.

El procedimiento seguido para la detrmnación del cianuro total y libre en almendra y harinas de almendra de hule fue el siguiente:

a. Se prepararon las siguientes soluciones:

Solución 0.1 M de ácido ortofosfórico.

Solución reguladora de acetato 0.1 M, pH 5.5

Solución reguladora de fosfato 0.1 M, pH 6.0. (Guardada en refrigeración).

Solución reguladora de fosfato 0.2 M, pH 7.0. (Guardada en refrigeración).

Solución de linamarina 5 mM, en solución reguladora de fosfato 0.1 M, pH 6.0. (Guardada en refrigeración).

Solución de linamarina 0.2 mM, preparada por dilución de la solución anterior, con solución reguladora de fosfato 0.1 M, pH 6.0. (Guardada en refrigeración).

Solución de hidróxido de sodio 0.2 M.

Solución de Cloramina-T al 0.5% peso/volumen en agua. (Preparada el mismo día en que se va a utilizar).

Reactivo de piridina-pirazolona; 0.2 g. de bispirazolona y 1.0 g. de 3-metil,1-fenil, 5-pirazolona disueltos en 200 ml. de piridina grado analítico. (Preparada el mismo día en que se va a utilizar; almacenada en frasco de vidrio oscuro).

Solución madre de cianuro, 264.8 μg KCN/ml preparada con KCN seco y solución 0.2 M de hidróxido de sodio.

Soluciones patrón de cianuro de concentraciones menores de 3.6 μg KCN/ml. (Preparadas el mismo día que se van a utilizar), preparadas a partir de la solución madre anterior.

Solución patrón de 2.648 μg KCN/ml preparada por dilución 1/100 de la solución madre, con solución reguladora de fosfato 0.1 M, pH 6.0.

Soluciones patrón de 2.118, 1.589 y 1.059 μg KCN/ml. preparadas a partir de la primera solución patrón indicada, por diluciones con solución reguladora de fosfato 0.1 M, pH 6.0.

b. Se obtuvo la linamarasa de cáscara de yuca del siguiente modo:

200 g. de cáscara de yuca fresca se homogenizaron en porciones de 25 g. con 200 ml. de solución reguladora de acetato 0.1 M, pH 5.5; la homogenización se hizo en una licuadora durante tres minutos a velocidad máxima, habiendo antes cortado en pedacitos el material.

Se centrifugó el homogenizado a 10,000 g durante 30 minutos a 4 °C.

Se separó el sobrenadante y en él se disolvió sulfato de amonio, hasta lograr una concentración de 460g/litro; esta solución se dejó a 4 °C durante 16 horas.

Se centrifugó la solución anterior a 10,000 g durante una hora a 4 °C y se descartó el sobrenadante.

El precipitado se disolvió en 150 ml. de solución reguladora de fosfato 0.1 M, pH 6.0 y se dializó contra la misma solución reguladora. La relación de volúmenes de solución en diálisis a solución externa, fue alrededor de 3 a 35. Se dejó dializando la solución por 24-48 horas en refrigeración.

La solución de enzima dializada se guardó en congelación, en porciones de 15-20 ml. en tubos de ensayo.

- c. Se hizo una curva de calibración para cianuro y se determinó la actividad de la linamarasa obtenida;
Se llevó a cabo la reacción de linamarina-linamarasa necesaria para la determinación de la actividad de la enzima y luego se cuantificó el cianuro producido. Para realizar la cuantificación del cianuro, se corrieron a la par una solución blanco de enzima y soluciones preparadas a partir de las soluciones patrón de cianuro. Todas las determinaciones se trabajaron en triplicado, en tubos de ensayo de 10 ml. con tapadera de rosca, utilizando un agitador para tubos de ensayo. Los volúmenes de soluciones a mezclar fueron los siguientes, para obtener un volumen final de mezcla de 5.0 ml. en todos los casos: (volúmenes expresados en ml.)

	Patrón corresp.	Linamari- na 5 mM	Fosfato 0.1 M pH 6.0	Enzima	NaOH 0.2M	Clorani- na-T 5%	Piridina/ pirazolona	
i.	Linamarina- linamarasa	---	0.5	2.8	0.1	0.6	0.2	0.8
ii.	Blanco de enzima	---	---	3.3	0.1	0.6	0.2	0.8
iii.	Patrón 0 µg KCN/5ml	---	---	4.0	---	---	0.2	0.8
iv.	Patrón 1.059 µg KCN/5ml	1.0	---	3.0	---	---	0.2	0.8
v.	Patrón 1.589 µg KCN/5ml	1.0	---	3.0	---	---	0.2	0.8
vi.	Patrón 2.118 µg KCN/5ml	1.0	---	3.0	---	---	0.2	0.8
vii.	Patrón 2.118 µg KCN/5ml	1.0	---	3.0	---	---	0.2	0.8

El procedimiento seguido fue el siguiente:

En los tubos de reacción linamarina-linamarasa, se puso linamarina y enzima y en los tubos de blanco de enzima se puso enzima; se taparon y agitaron los tubos y se mantuvieron a 30 °C en un baño de agua de temperatura controlada, por 30 min. Al cabo de ese tiempo se detuvo la reacción, agregándoles NaOH 0.2M.

Se agregó solución reguladora de fosfato 0.1M, pH 6.0 a todos los tubos. A los tubos de mezclas patrón, se les agregó, la solución patrón correspondiente. De aquí en adelante, todos los tubos se llevaron a la par.

Se añadió Cloramina-T, se taparon los tubos, se agitaron y se mantuvieron en agua con hielo por 5 min.

Se agregó el reactivo de piridina/pirazolona, se taparon y agitaron los tubos y se esperó 90 min., para que se desarrollara el color azul.

Se hicieron lecturas de absorbancia a 620 nm.

Las lecturas de los tubos de patrones de cianuro se corrigieron, restándoles la lectura del tubo patrón de 0 µg KCN/5ml y se graficó absorbancia corregida en función de concentración en µg KCN/5ml. Con los valores de los cinco puntos de patrones de cianuro se calculó la línea de regresión para la curva de calibración.

Para hacer las lecturas de absorbancia de las mezclas de reacción linamarina-linamarasa, fue necesario diluir las mezclas para que quedaran en el rango de la curva de calibración. La dilución se hizo con solución reguladora de fosfato 0.1M, pH 6.0 en el momento antes de leer la absorbancia. Las lecturas de estas mezclas diluídas se corrigieron, restándoles la lectura del blanco de enzima.

Con los valores de absorbancia corregidos y la ecuación de la línea de regresión de la curva de calibración, se obtuvo la concentración de las mezclas diluídas en µg KCN/5ml. Luego con el factor de dilución utilizado, la relación de pesos moleculares de linamarina y KCN y el tiempo de reacción, 30 min., se calculó la actividad de la enzima. En el presente caso, se determinó que la actividad de la enzima obtenida de cáscara de yuca, era de 0.7 UI/ml o sea 11.7 nkat/ml.

- d. Se extrajo el cianuro libre y los glicósidos cianogénéticos de la almendra y las harinas de almendra de hule, siguiendo los pasos indicados a continuación:

Se pesó alrededor de 15 g. de almendra o harina de almendra de hule. La almendra fraccionada (cada almendra dividida en cuatro partes) o la harina, se homogenizó en 160 ml. de solución de H₃PO₄ 0.1M en una licuadora, durante 30 seg. Después de dejar la mezcla en reposo por 1 min., se volvió a homogenizar por otros 30 seg. en la licuadora. (El minuto de espera fue para evitar recalentamiento).

El homogenizado se centrifugó, para separar la solución de los sólidos. (No fue posible hacer la separación por filtrado; se obtenía un filtrado demasiado turbio, tardándose demasiado tiempo en filtrar).

En algunos casos, el sobrenadante permaneció turbio.

Se aforó el sobrenadante a 250 ml. con solución de H_3PO_4 0.1 M, habiendo desaguado bien todos los recipientes utilizados, con la misma solución de ácido ortofosfórico.

El extracto así preparado, se guardó en recipiente plástico con tapadera de rosca a 5 °C. Antes de cuatro días, al extracto se le cuantificó cianuro total y cianuro libre.

- e. Se cuantificó el cianuro total y el cianuro libre en los extractos de almendra y harinas de almendra de hule, de acuerdo con lo siguiente:

A la par de las pruebas de cianuro total (con enzima) y de cianuro libre (sin enzima) presentes en los extractos, se corrieron mezclas patrón de cianuro, blanco de enzima, blanco de reactivos y un control de reacción linamarina-linamarasa con un volumen dado de solución de linamarina 0.2 mM. Todo se trató en triplicado.

La cantidad de enzima que se utilizó para la determinación de cianuro total, fue 0.8 ml., que equivalen a una actividad de 0.56 UI o 9.3 nkat. Esta actividad fue suficiente para causar hidrólisis completa de la linamarina presente, según se determinó en base al control linamarina-linamarasa.

Los volúmenes a mezclar fueron los siguientes, para obtener un volumen final de 5.0 ml.: (volúmenes expresados en ml.)

	Extracto o patrón	Linamarina 5mM	Fosfato pH 7.0	Fosfato pH 6.0	Enzima	NaOH 0.2M	Clor-T 5%	Piridina/pirazolona	
i.	Muestra, cianuro total	0.1	---	0.4	2.1	0.8	0.6	0.2	0.8
ii.	Muestra, cianuro libre	0.1	---	0.4	2.9	---	0.6	0.2	0.8
iii.	Control	---	0.2	0.4	2.0	0.8	0.6	0.2	0.8
iv.	Blanco de enzima	---	---	0.4	2.2	0.8	0.6	0.2	0.8
v.	Blanco de reactivos	---	---	0.4	3.0	---	0.6	0.2	0.8
vi.	Patrón 0 $\mu\text{gKCN}/5\text{ml}$	---	---	---	4.0	---	---	0.2	0.8
vii.	Patrón 1.059 $\mu\text{gKCN}/5\text{ml}$	1.0	---	---	3.0	---	---	0.2	0.8
viii.	Patrón 1.589 $\mu\text{gKCN}/5\text{ml}$	1.0	---	---	3.0	---	---	0.2	0.8
ix.	Patrón 2.118 $\mu\text{gKCN}/5\text{ml}$	1.0	---	---	3.0	---	---	0.2	0.8
x.	Patrón 2.648 $\mu\text{gKCN}/5\text{ml}$	1.0	---	---	3.0	---	---	0.2	0.8

- El procedimiento seguido fue el siguiente:
- Se puso en los tubos correspondientes, la solución reguladora de fosfato 0.2 M, pH 7.0 y luego se agregó el extracto o la solución de linamarina.
- A los tubos correspondientes a la deteminación de cianuro total en la muestra, al control de linamarina-linamarasa y al blanco de enzima, se les agregó enzima.
- Los tubos hasta aquí mencionados se taparon, se agitaron y se mantuvieron a 30 °C en un baño de agua durante 15 min. Al cabo de este tiempo, se les agregó NaOH 0.2M, para detener la reacción.
- Se agregaron las soluciones patrón a los tubos correspondientes de las mezclas patrón. De aquí en adelante, todos los tubos se llevaron a la par.
- Se agregó la solución reguladora de fosfato 0.1M pH 6.0.
- Se añadió Cloramina-T, se taparon y agitaron los tubos y se mantuvieron dentro de agua con hielo por 5 min.
- Se agregó el reactivo de piridina/pirazolona y se esperó 90 min. a que se desarrollara el color azul.
- Se leyó absorbancia a 620 nm.
- Las lecturas de las mezclas patrón se corrigieron, restándoles la lectura de la mezcla patrón de 0 μ gKCN/5ml y se calculó la línea de regresión para la curva de calibración.
- Las lecturas de las mezclas en que se determinó cianuro total y de las mezclas control linamarina-linamarasa, se corrigieron, restándoles la lectura del blanco de enzima.
- Las lecturas de las mezclas en que se determinó cianuro libre, se corrigieron, restándoles la lectura del blanco de reactivos.
- En algunos casos, en las deteminaciones de cianuro total, fue necesario diluir las mezclas con solución reguladora de fosfato 0.1M pH 6.0, para que las lecturas de absorbancia quedaran dentro del intervalo de la curva de calibración. Esto se hizo, siempre que se tuviera la seguridad que la actividad de la enzima había sido la suficiente para hidrolizar toda la linamarina presente en la alícuota de extracto analizada.
- Con las lecturas corregidas, la línea de regresión, para la curva de calibración, los factores de dilución, la relación de pesos moleculares del KCN y el CN⁻ y el dato de cantidad de muestra utilizada en la extracción, se calculó el contenido de cianuro total y libre en almendra y harinas. Se expresó en mgCN⁻ total/100g y mgCN⁻ libre/100g.
- Por diferencia de los contenidos de cianuro total y cianuro libre, se calculó el contenido de cianuro enlazado.
- El control linamarina-linamarasa, se hizo, para asegurarse de la efectividad de la enzima y del método, para obtener un alto porcentaje de recuperación de cianuro.

Una de las curvas de calibración de cianuro utilizadas en la cuantificación de cianuro libre y cianuro total, aparece al final de este Apéndice.

Problemas encontrados en la determinación de cianuro total y enlazado al seguir el procedimiento especificado anteriormente:

Se encontraron problemas en la extracción de cianuro libre y enlazado. En muchos casos a pesar de la centrifugación que se hizo del homogenizado del material, el extracto quedó turbio, lechoso. Algunas veces, el extracto quedó menos turbio después de estar almacenado en frío, pues sedimentaba parte del causante de la turbiedad.

Se presentó el caso de algunos de estos extractos turbios, que al momento de tomar una alícuota de ellos y agregarles la solución reguladora de fosfato 0.2M, pH 7.0 en la preparación para la reacción de hidrólisis, precipitó el causante de la turbiedad. Después de centrifugación, si el sobrenadante quedaba claro y era posible separarlo del precipitado, se tomaba una alícuota de él y se continuaba el análisis. En los casos en que el extracto no quedaba claro, esto no presentó mayor problema a la hora de hacer la cuantificación de cianuro, pues en la mezcla final de 5 ml, la turbiedad ya no era notoria, en la mayoría de los casos.

El comportamiento de los extractos de las diferentes muestras, almendra cruda, almendra remojada, almendra cocida, almendra remojada-cocida, almendra cocida-extraída y las correspondientes harinas, no fue uniforme en cuanto a quedar todos claros o todos turbios. Ni siquiera fue uniforme el comportamiento entre extractos de muestras con tratamiento previo semejante; por ejemplo, entre los extractos de almendra cruda, hubo unos turbios y unos claros.

Se hizo la prueba de centrifugar algunos extractos turbios a aceleraciones hasta de 10,000g por 20 min. y ni siquiera así se logró aclararlos. Todas las veces que se centrifugaron extractos, se formó una capa de material sólido aceitoso en la parte superior del sobrenadante; esta capa era fácil de quitar entera, cuando era gruesa, pero ya en una centrifugación posterior a la primera, se formaba delgada y era casi imposible de remover.

Es necesario analizar a fondo el método de extracción de cianuro de almendra y harinas de almendra de hule, para encontrar el procedimiento adecuado para obtener extractos claros. Al resolver este problema, se logrará mejorar el método, tanto en su aspecto práctico, como en el aspecto de reproducibilidad y exactitud.

En cuanto al método espectrofotométrico para la cuantificación del cianuro, se obtuvo reproducibilidad aceptable, cuando todos los reactivos de la reacción de desarrollo del color, se prepararon el mismo día que se utilizaron, y cuando en cada paso de la reacción, se utilizó un agitador para tubos de ensayo, para homogenizar la mezcla de reacción. Se consideró necesario trabajar todas las pruebas en triplicado.

Debido a que son muchos los pasos a seguir en esta determinación y a que son muchas las soluciones que hay que medir y agregar a cada tubo, el procedimiento resultó muy tedioso; el trabajar con pipetas automáticas permitiría trabajar más rápido y convertir el procedimiento en uno no tan tedioso; en el presente caso no se dispuso de tal tipo de pipetas.

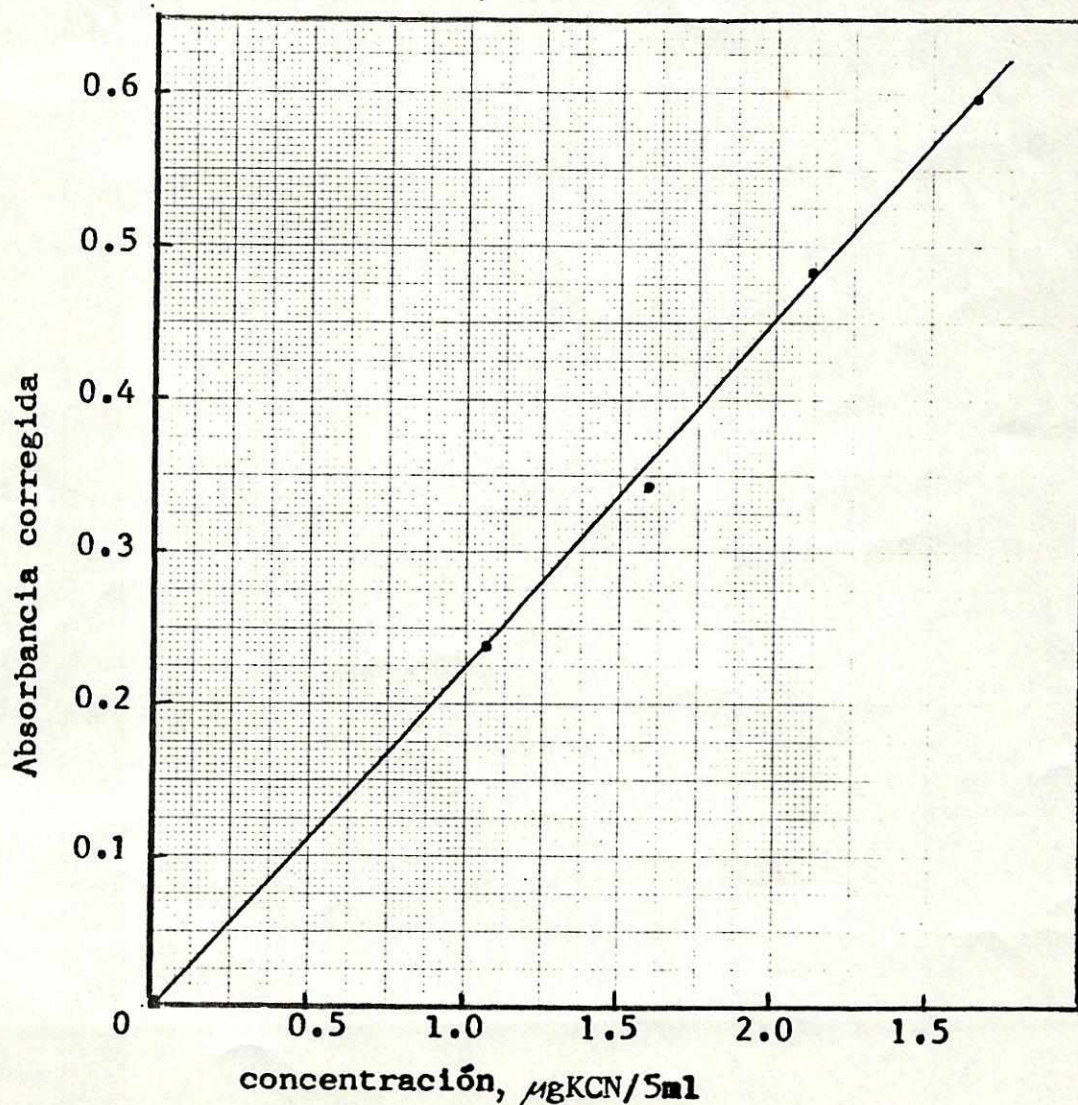
Curva de calibración para determinación de cianuro, por el método espectrofotométrico de Cooke (Cloramina-T, piridina/pirazolona).

Puntos determinados con las soluciones patrón:
(Aparato Turner 350, slit 5nm, lecturas a 620nm)

concentración $\mu\text{gKCN}/5\text{ml}$	0.000	1.059	1.589	2.118	2.648
absorbancia corregida	0.000	0.237	0.344	0.483	0.596

Línea de regresión calculada con los puntos anteriores:

$$\text{abs corr} = 0.2258(\text{conc } \mu\text{gKCN}/5\text{ml}) - 0.0029 \quad r^2 = 0.999$$



APENDICE B

Curvas de calibración utilizadas en la determinación de calcio, hierro, fósforo y valor calórico, en la almendra y harinas de almendra de semilla de hule Hevea brasiliensis.

1. Las determinaciones de calcio y hierro, se hicieron por espectrofotometría de absorción atómica en un aparato Perkin-Elmer 305B con llama de aire-acetileno. Al final de este Apéndice aparecen las gráficas de las curvas de calibración utilizadas; en ellas se presenta lectura expandida de absorbancia en función de concentración de calcio o hierro en $\mu\text{g/ml}$ y también se presenta la línea de regresión calculada, y utilizada en las determinaciones.
2. La determinación de fósforo fue hecha por espectrofotometría visible con un aparato Turner 350 de un sólo haz; se trabajó por el método de formación del molibdovanadofosfato, haciendo lecturas de absorbancia a 400 nm. En la gráfica de la curva de calibración utilizada, presentada al final de este Apéndice, aparece lectura de absorbancia ajustada, en función de concentración de fósforo en g P/ml ; también aparece la línea de regresión calculada y utilizada en las determinaciones.
El cero de lectura de absorbancia del aparato, se ajustó con la solución patrón de concentración más baja. A las soluciones de las muestras, por tener contenidos relativamente bajos de fósforo, se les agregó una cantidad conocida de la solución patrón mencionada.
La concentración obtenida de la línea de regresión para las soluciones de las muestras, se corrigió restándole el contenido de fósforo debido a la solución patrón agregada.
3. La determinación de valor calórico se hizo con una bomba calorimétrica Gallenkamp. Se construyó una curva de calibración, en base a los datos obtenidos con muestras de diferente peso de ácido benzoico de valor calórico certificado. En la gráfica de la curva de calibración, al final de este Apéndice, aparece lectura corregida, en función de valor calórico en kcal.; también aparece la línea de regresión calculada y utilizada en las determinaciones.
Las lecturas son obtenidas de un galvanómetro y las unidades son arbitrarias. La corrección hecha a las lecturas consiste en restarles la lectura obtenida cuando se hace una determinación, sin poner ninguna muestra en la cápsula de combustión de la bomba calorimétrica.

Curva de calibración para determinación de calcio por espectrofotometría de absorción atómica.

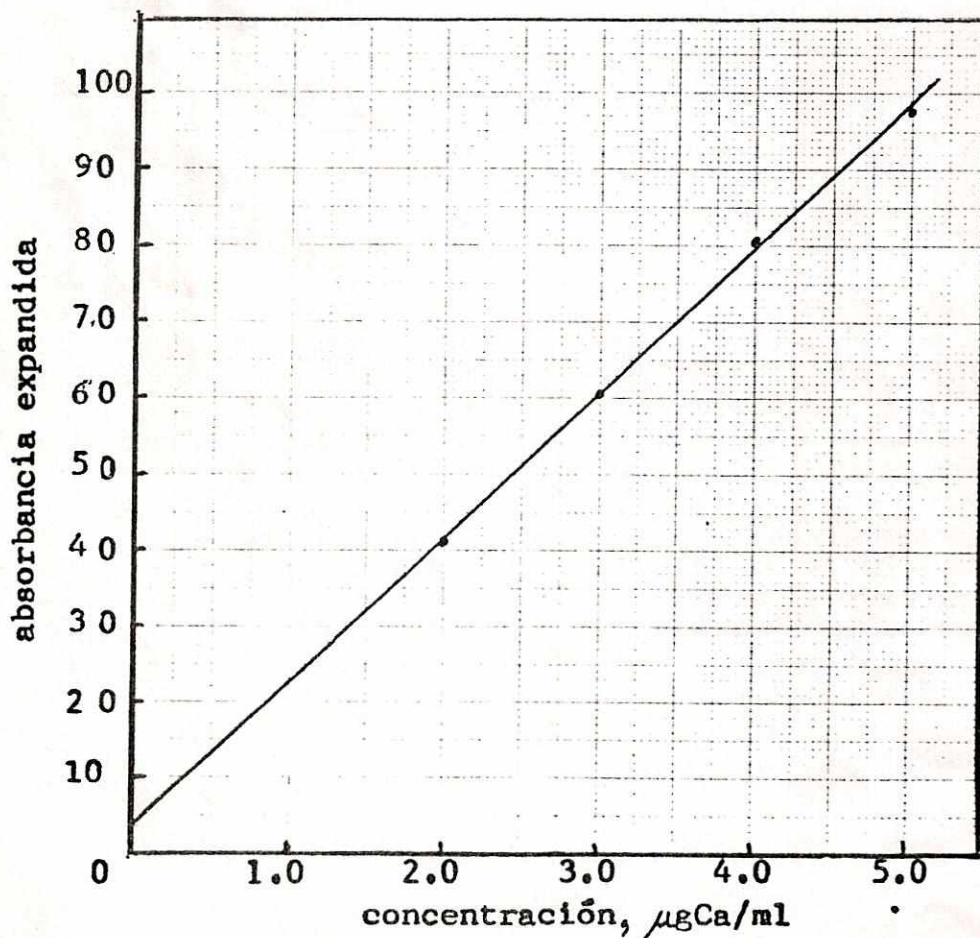
Puntos determinados con las soluciones patrón:

(Aparato Perkin-Elmer 305B, slit 1.4nm, lecturas a 423nm, llama de aire-acetileno)

Concentración $\mu\text{gCa/ml}$	2.0	3.0	4.0	5.0
Absorbancia expandida	41.1	60.5	80.6	97.6

Línea de regresión calculada con los puntos anteriores:

$$\text{abs exp} = 18.9600(\text{conc } \mu\text{gCa/ml}) + 3.5900 \quad r^2 = 0.9994$$



Curva de calibración para determinación de hierro por espectrofotometría de absorción atómica.

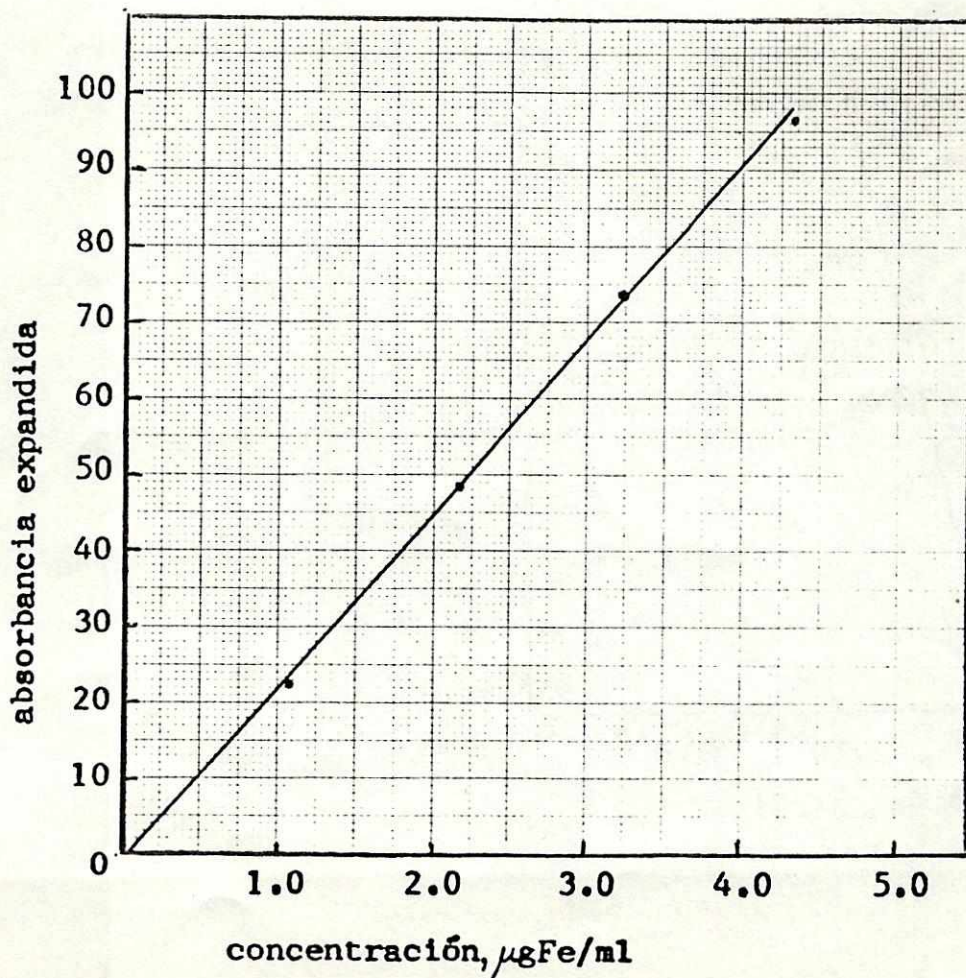
Puntos determinados con las soluciones patrón;

(Aparato Perkin-Elmer 305B, slit 0.2nm, lecturas a 248nm, aire-acetileno)

Concentración $\mu\text{gFe/ml}$	1.08	2.17	3.25	4.34
Absorbancia expandida	22.5	48.1	73.4	96.3

Línea de regresión calculada con los puntos anteriores:

$$\text{abs exp} = 22.7160(\text{conc } \mu\text{gFe/ml}) - 1.4852 \quad r^2 = 0.9996$$



Curva de calibración para determinación de fósforo por el método espectrofotométrico del fosfomolibdovanadato.

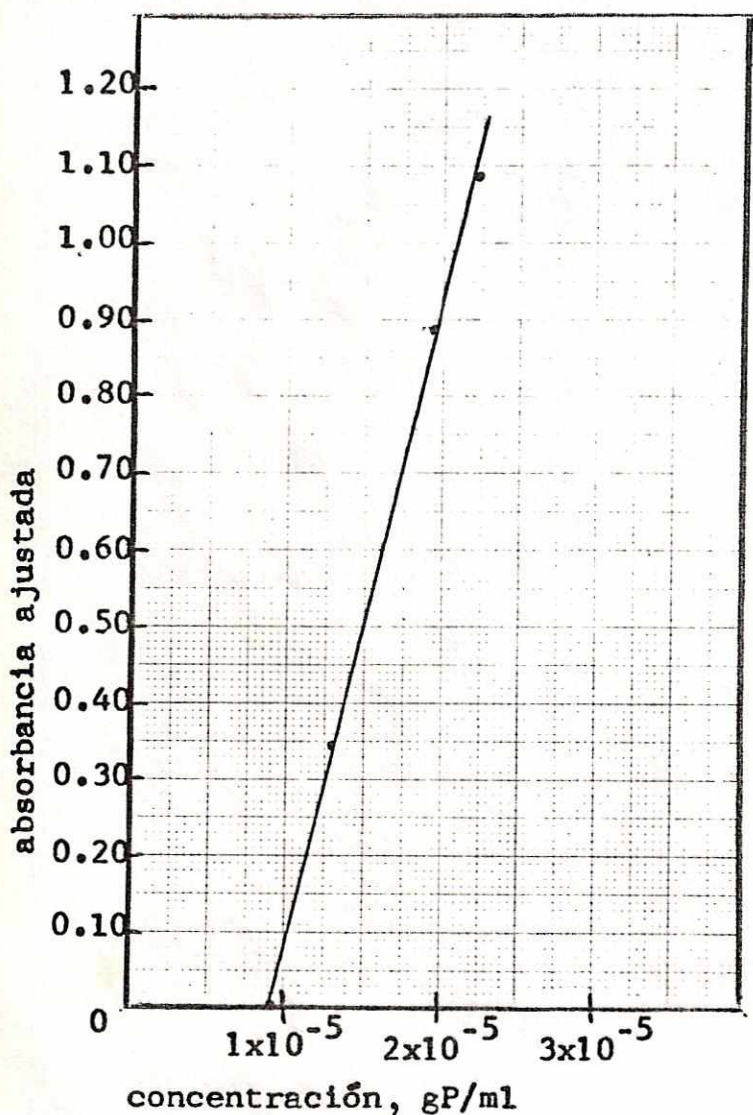
Puntos determinados con las soluciones patrón:
(Aparato Turner 350, slit 5nm, lecturas a 400nm)

Concentración gP /ml	0.923 $\times 10^{-5}$	1.299 $\times 10^{-5}$	1.935 $\times 10^{-5}$	2.213 $\times 10^{-5}$
Absorbancia ajustada	0.000	0.347	0.887	1.087

Línea de regresión calculada con los puntos anteriores:

$$\text{abs aj} = 8.454108 \times 10^4 (\text{concgP/ml}) - 0.7661$$

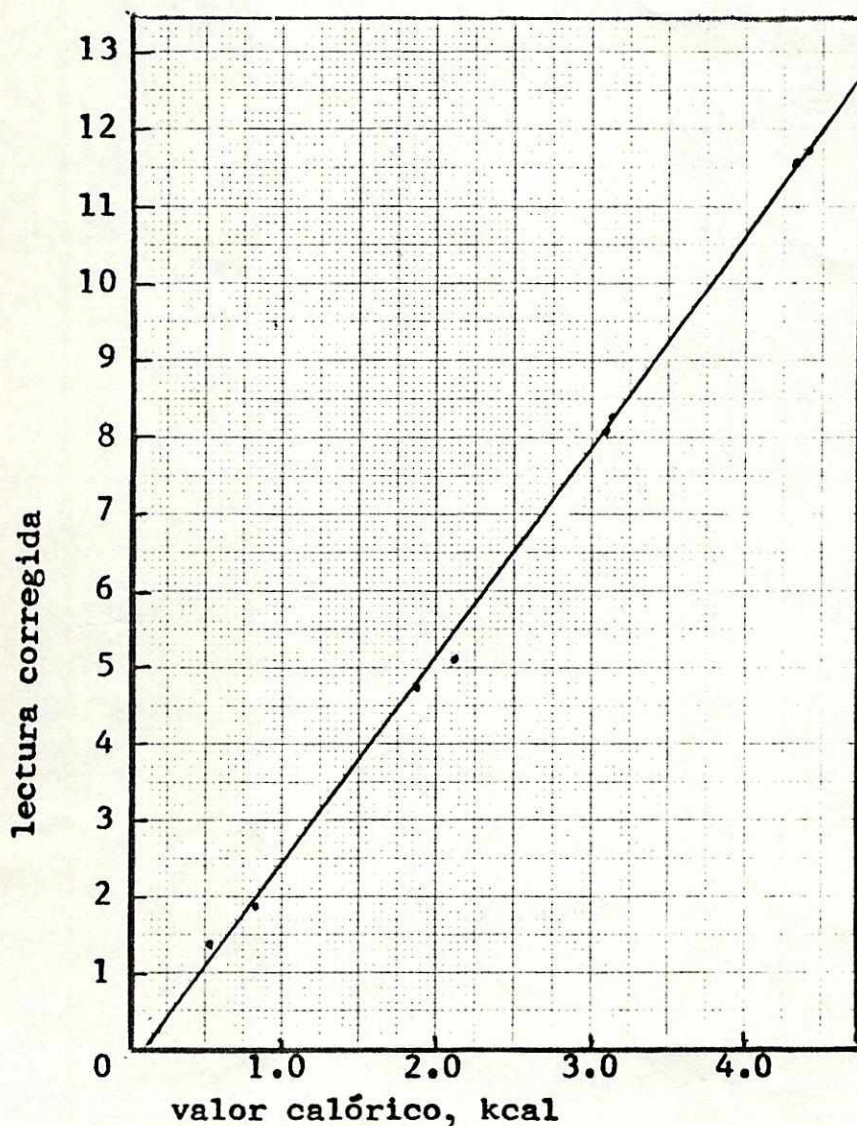
$$r^2 = 0.9993$$



Curva de calibración para la determinación de valor calórico, utilizando una bomba calorimétrica Gallenkamp.

Puntos determinados con diferentes masas de ácido benzoico, de valor calórico certificado, (25 at. de presión de oxígeno)

Valor calórico kcal	0.527	0.833	1.871	2.119	3.088	3.125	4.333	4.419
Lectura corregida	1.37	1.87	4.72	5.12	8.07	8.27	11.57	11.72



Línea de regresión calculada con los puntos anteriores:

$$\text{lect corr} = 2.7234(\text{valor calórico, kcal}) - 0.3270$$

$$r^2 = 0.9982$$

APENDICE C

Método y procedimiento seguido para la determinación del efecto del remojo, la cocción y la extracción del aceite con hexano, en el contenido de cianuro en la almendra de semilla de hule Hevea brasiliensis.

Se realizaron pruebas de distintos tiempos de remojo, distintos tiempos de cocción, un tiempo de remojo y distintos tiempos de cocción y un tiempo de cocción y extracción de aceite con hexano. En estas pruebas, se trabajó con un mismo lote de semilla, utilizando cerca de 15 g. de almendra recién descortada, para cada prueba. La almendra se fraccionó antes de cada prueba, habiéndose dividido cada almendra en cuatro partes.

En las pruebas de remojo se utilizó una proporción de almendra a agua, de 15 g. de almendra en 250 ml. de agua. En las pruebas de cocción, la proporción de almendra a agua al inicio del tratamiento fue de 15 g. de almendra en 500 ml. de agua.

El procedimiento seguido en las pruebas fue el que a continuación se describe:

1. Pruebas de distintos tiempos de remojo de la almendra fraccionada; 0,5,9, 15,20 y 25 horas.

Se remojó un peso conocido de almendra fraccionada por el tiempo indicado. El remojo se hizo en agua desionizada, a temperatura ambiente y en recipientes destapados. La proporción utilizada de almendra a agua fue cercana a 15 g. de almendra en 250 ml. de agua.

Al terminar el tiempo de remojo requerido, se descartó el agua de remojo y se procedió a la extracción y cuantificación del cianuro total y libre, de acuerdo al método de Cooke (Cooke, 1978; Cooke, 1979), presentado en el Apéndice A de este trabajo.

2. Pruebas de distintos tiempos de cocción; 0.5 y 1 hora.

Se introdujo un peso conocido de almendra fraccionada dentro de un recipiente con agua hirviendo. La cocción en agua hirviendo se hizo por el tiempo indicado, en recipientes destapados, colocados en estufas de plancha. La proporción inicial de almendra a agua fue cercana a 15 g. de almendra en 500 ml. de agua. Este volumen inicial de agua fue necesario para que durante la cocción la almendra no se quedara en seco.

Al terminar el tiempo de cocción requerido, se descartó el agua remanente y se procedió a hacer la extracción de cianuro y a cuantificarlo como cianuro total y libre, según el método de Cooke ya mencionado

3. Pruebas de un tiempo de remojo y distintos tiempos de cocción; 20 horas de remojo y 0.5 y 1 hora de cocción.

El procedimiento seguido para estas pruebas fue una combinación de los procedimientos de remojo y de cocción descritos en los incisos 1. y 2. anteriores. Primero se procedió al remojo de un peso conocido de almendra fraccionada, por 20 horas y luego de descartar el agua de remojo, se introdujo la almendra remojada en agua hirviendo. Después de la cocción, se descartó el agua remanente y se procedió a la extracción y cuantificación de

cianuro total y libre por el método de Cooke.

4. Pruebas de un tiempo de cocción y un tiempo de extracción del aceite con hexano; 0.5 horas de cocción y 4 horas de extracción.

Un peso conocido de almendra fraccionada se cocinó en agua hirviendo por media hora, siguiendo el procedimiento indicado en el inciso 2. anterior. Después de descartar el agua remanente de la cocción, la almendra cocida se puso a secar por 4 horas en horno con corriente de aire a 60 °C. Posteriormente la almendra se extrajo por 4 horas de reflujo con hexano en un aparato Soxhlet. La almendra cocida-extraída se secó a temperatura ambiente y luego se procedió a extraer y cuantificar su cianuro total y libre, de acuerdo con el método de Cooke.

APENDICE D

Preparación de distintas harinas de almendra de semilla de hule Hevea brasiliensis.

Para la preparación de harinas de almendra de hule, se utilizaron cerca de 25 kg. de semilla recolectada en 1980 y 70 kg. de semilla recolectada en 1981.

Se descortizó la semilla, quebrantándola con un aparato desintegrador-picador-molino de forrajes, y separando la cáscara de la almendra, manualmente.

Cuando fue necesario secar la almendra o la harina, no se utilizaron temperaturas mayores de 60-70 °C, con el objeto de evitar daño a la calidad del aceite y evitar problemas organolépticos consecuentes, en las dietas utilizadas para la evaluación biológica.

El procedimiento seguido para la preparación de cada una de las harinas fue el siguiente:

1. Harina de almendra cruda.

Se preparó harina de almendra cruda con almendra de semilla recolectada en 1981. Se puso a secar cerca de 5.5 kg de almendra, durante 10 horas en un horno de bandejas con corriente de aire, a 60-70 °C.

La almendra seca se molió en el mismo aparato utilizado para quebrantar la semilla, poniéndole a éste un tamiz con agujeros de 3 mm. de diámetro.

Se obtuvo cerca de 3.5 kg. de harina fina; ésta se guardó en refrigeración hasta el momento de preparar con ella la dieta correspondiente para su evaluación biológica.

2. Harina de almendra remojada por veinte horas.

Se preparó harina de almendra remojada, con almendra de semilla recolectada en 1981.

Se remojó junta la almendra utilizada para preparar esta harina y la utilizada para preparar harina de almendra remojada por veinte horas y cocida por media hora.

Cerca de 12 kg. de almendra se remojaron por veinte horas en agua. La almendra estaba muy levemente fraccionada, debido a que al pasar la semilla por el aparato quebrantador, parte de la almendra fue fraccionada, levemente.

La proporción de almendra a agua fue cercana a 250 g. de almendra en 1 litro de agua; el remojo se hizo en recipientes destapados.

Después del remojo, se descartó el agua y aproximadamente la mitad de la almendra, se puso a secar en el horno de bandejas y corriente de aire ya mencionado, por cerca de 20 horas. La otra mitad de la almendra remojada se utilizó en la preparación de la harina de almendra remojada-cocida, como ya se indicó, y según lo especificado en el inciso 4., posterior.

La almendra remojada, seca, se molió en el aparato ya mencionado, usado para este menester, y se obtuvo cerca de 3 kg. de harina fina, que se guardó en refrigeración hasta su posterior utilización.

3. Harina de almendra cocida por treinta minutos.

Se preparó una harina de almendra cocida con almendra de semilla recolectada en 1980 y otra con almendra de semilla recolectada en 1981. De la primera se prepararon cerca de 11 kg. y de la segunda cerca de 3.5 kg.

Se utilizó una marmita con chaqueta de vapor, para llevar el agua a ebullición y cocinar la almendra.

En el caso de la almendra de semilla recolectada en 1980, después de descorticar la semilla, se molió la almendra en el mismo aparato quebrantador, quedando fraccionada en cerca de cuatro partes cada almendra. La proporción inicial de almendra a agua fue en este caso, de 250 g. de almendra en 1 litro de agua.

En el caso de la almendra de semilla recolectada en 1981, la almendra no se molió; se introdujo en el agua hirviendo, estando sólo muy levemente fraccionada. La proporción inicial de almendra a agua, fue de 150 g. de almendra en 1 litro de agua. Se cocinó junta la almendra de hule, de semilla recolectada en 1981, que se utilizó para preparar la harina de almendra cocida y la que se utilizó para preparar la harina de almendra cocida-extraída.

En los dos casos de almendra cocida, después de la media hora de cocción, se descartó el agua y la almendra se puso a secar en el horno de bandejas y corriente de aire, ya mencionado, por cerca de veinte horas. La almendra tratada, seca, se molió, obteniéndose harinas finas.

De la harina obtenida de almendra de semilla recolectada en 1981, la mitad, 3.5 kg. se guardó en refrigeración y la otra mitad se utilizó para preparar harina de almendra cocida-extraída, según lo indicado en el inciso 5., posterior. La harina de almendra de semilla recolectada en 1980, también se guardó en refrigeración, hasta el momento de utilizarse en la preparación de la dieta correspondiente.

4. Harina de almendra remojada por veinte horas y cocida por treinta minutos.

Según se indicó en el inciso 2., anterior, la mitad de la almendra de semilla recolectada en 1981, que se remojó por veinte horas, se utilizó para preparar la harina de almendra remojada-cocida.

La almendra remojada fue cocinada en la marmita con agua hirviendo, por media hora. Después de descartar el agua de cocción, la almendra se secó en el horno de bandejas y corriente de aire mencionado, por cerca de veinte horas. La almendra seca se molió y se obtuvo alrededor de 2.5 kg. de harina fina, la cual se guardó en refrigeración.

5. Harina de almendra cocida por treinta minutos y extraída con hexano.

Según lo indicado en el inciso 3., anterior, parte de la harina de almendra de semilla recolectada en 1981, que se cocinó por media hora, fue utilizada para preparar la harina de almendra cocida-extraída. Esta parte de harina de almendra cocida, alrededor de 3.5 kg., se dividió en porciones de cerca de 0.8 kg. cada una, las cuales fueron puestas a extraer con hexano, una por una, en un aparato Soxhlet con un balón de 5000 ml. de capacidad.

La extracción con hexano de cada una de las mencionadas porciones de harina, duró alrededor de 12 horas de reflujo, sin remojo previo en hexano, o alrededor de 8 horas de reflujo, con remojo previo en hexano. El contenido de extracto etéreo bajó a 7% en la harina así tratada.

Después de la extracción, se secó la harina, evaporando el exceso de hexano, primero a temperatura ambiente en el laboratorio, y luego en un horno con corriente de aire a 60°C.

Se prepararon cerca de 1.7 kg. de harina cocida-extraída, esta primera vez. Posteriormente fue necesario preparar otros 2 kg., y se hizo siguiendo el mismo procedimiento.

Las harinas obtenidas, de color crema y muy finamente divididas, se guardaron en refrigeración hasta el momento de su utilización.

Además de haber preparado las harinas indicadas, se hicieron pruebas para preparar una harina, de almendra de semilla recolectada en 1981, tratada por media hora de cocción y extracción de aceite por prensado. La almendra se molió y se coció por media hora, de acuerdo con lo indicado en el inciso 3., anterior, para la preparación de harina de almendra cocida, a partir de harina de almendra de semilla recolectada en 1981; luego, la almendra fue secada y molida, obteniéndose una harina fina. Esta harina se prensó, utilizando una prensa Carver Modelo C, de laboratorio, y se sometió a presiones hasta de 2240 lb/pulg².

Se extrajo una cierta cantidad de aceite, pero no la suficiente como para disminuir considerablemente el contenido de extracto etéreo en la harina.

Probablemente la extracción de aceite de la harina sea más efectiva si, además de someterla a alta presión, se calienta; esto no se pudo hacer y por ello se eliminó la posibilidad de evaluar una harina de almendra cocida-extraída por prensado.

APENDICE E

Método para la determinación del índice de eficiencia proteínica, PER, y la razón proteínica neta, NPR. Utilización de estos métodos, para evaluar la calidad alimenticia de distintas harinas de almendra de semilla de hule Hevea brasiliensis.

El material a evaluar en este trabajo, distintas harinas de almendra de hule, contiene un factor tóxico, cianuro; por lo anterior, en las pruebas biológicas, probablemente, además de afectar la calidad de la proteína, afecte el contenido de este factor tóxico, también.

El índice de eficiencia proteínica, PER, y la razón proteínica neta, NPR, evalúan la calidad de la proteína de un alimento; en el presente caso, los valores de PER y de NPR obtenidos fueron un reflejo, no sólo de la calidad de la proteína de la almendra de hule, sino que probablemente también, de los efectos del factor tóxico presente.

El método utilizado para determinar los valores de PER y NPR, fue básicamente el indicado por Pellet y Young (Pellet and Young, 1980), pero tuvo algunas pequeñas diferencias. En esta determinación, se procedió según se indica a continuación:

1. Con ratas raza Wistar, de 21-23 días de edad y pesos individuales entre 42 y 50 g., se formaron 11 grupos, de 8 ratas cada uno, 4 hembras y 4 machos. El peso promedio por rata, en cada grupo, fue 47 g. Los animales se pusieron en jaulas individuales con suelo de malla, cada una identificada. Cada animal tuvo disponible todo el tiempo agua y la dieta que le correspondía.
2. Se prepararon dietas control de caseína, dietas control libres de proteína y dietas prueba con las distintas harinas de almendra de hule. El nivel de proteína en las dietas fue cercano al 10% en el caso de las dietas con fuente de proteína. El nivel de aceite en las dietas, fue en unos casos 5%, y en otros, 24%; por lo anterior, unas dietas fueron de valor calórico normal y otras de valor calórico alto.

La razón de preparar dietas de alto valor calórico, conteniendo 24% de aceite de algodón y/o de almendra de hule, fue que las harinas de almendra de hule, no extraídas, tenían un contenido de extracto etéreo muy alto. Esto es, en las harinas de almendra de hule, en las que no se hizo una extracción del aceite, el contenido de extracto etéreo era de aproximadamente 46.5%, mientras que el contenido de proteína cruda era aproximadamente de 17.3%. Por lo anterior, para preparar una dieta con un contenido de 10% de proteína cruda de harina de almendra de hule, es necesario que la harina constituya cerca del 50% de la dieta, lo cual causa un contenido de aceite en ella, de alrededor del 24%.

Las dietas que se prepararon fueron las siguientes:

 - Dieta-1, caseína, valor calórico normal. (11kg.)
 - Dieta-2, caseína, alto valor calórico. (7 kg.)
 - Dieta-3, libre de proteína, valor calórico normal. (7 kg.)
 - Dieta-4, libre de proteína, alto valor calórico. (7 kg.)
 - Dieta-5, harina de almendra cocida, alto valor calórico. (6 kg.)
 - Dieta-6, harina de almendra cocida-extraída, alto valor calórico. (4 kg.)

- Dieta-7, harina de almendra remojada, alto valor calórico. (5.5 kg.)
 Dieta-8, harina de almendra remojada-cocida, alto valor calórico. (4.5 kg.)
 Dieta-9, harina de almendra cruda, alto valor calórico. (6 kg.)
 Dieta-10, harina de almendra cocida (1980), alto valor calórico. (7 kg.)
 Dieta-11, harina de almendra cocida-extraída, valor calórico normal. (4 kg.)

(En las harinas de almendra de hule, en que no se especifica año, todas son de almendra de semilla recolectada en 1981).

Para preparar isocalóricas las dietas de valor calórico normal, por un lado, y las dietas de alto valor calórico, por otro, se asumió para el aceite de algodón y el aceite de almendra de hule, un valor isocalórico de 9 kcal/g y se tomó como contenido de aceite en las harinas de almendra de hule, el contenido de extracto etéreo determinado.

Las dietas de valor calórico normal se prepararon según la siguiente composición basal:

Componente	%
Proteína cruda	10
Minerales Hegsted	4
Aceite de algodón y/o aceite de almendra de hule	5
Aceite de bacalao	1
Almidón	80

Con adición de 5 ml. de una solución completa de vitaminas hidrosolubles, por cada 100 g. de dieta.

Las dietas de alto valor calórico se prepararon, aumentando el contenido de aceite a un 24% y disminuyendo el de almidón a un 61%.

Los ajustes necesarios para llenar los requisitos de proteína y aceite, se hicieron en todos los casos a expensas del almidón.

La mezcla de minerales Hegsted utilizada, Hegsted 4, es la siguiente, y en la proporción utilizada suministra la cantidad indicada de minerales a la dieta: (Hegsted *et al*, 1941)

	g/2001.7 g mezcla	mg/100 g dieta
CaCO ₃	600.0	1199
K ₂ HPO ₄	645.0	1289
CaHPO ₄ ·2H ₂ O	150.0	300
MgSO ₄ ·7H ₂ O	204.0	408
NaCl	335.0	669
Fe(C ₆ H ₅ O ₇) ₂ ·6H ₂ O	55.0	110
KI	1.6	3
MnSO ₄ ·4H ₂ O	10.0	20
ZnCl ₂	0.5	1
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.6	1

La solución utilizada, de vitaminas, es la siguiente, y en la proporción utilizada suministra la cantidad indicada de vitaminas a la dieta: (Manna and Hauge, 1953).

	g/litro sol.	mg/100g dieta
Tiamina-HCl	0.6	3
Piridoxina-HCl	0.6	3
Pantotenato de calcio	2.0	10
Riboflavina	0.6	3
Niacina	1.0	5
Biotina	0.002	0.01
Inositol	8.0	40
Acido fólico	0.004	0.02
Acido p-aminobenzoico	6.0	30
Menadiona (Vitamina K)	0.2	1
Vitamina B ₁₂	0.6	3
Cloruro de colina	30.0	150

La manera de preparar esta solución de vitaminas es, disolviendo el cloruro de colina en 500 ml. de agua y la mezcla de vitaminas en 500 ml. de etanol 95°; luego mezclando las dos soluciones. Esta solución debe mantenerse en refrigeración y debe agitarse bien, antes de utilizarse.

El aceite de hígado de bacalao es la fuente de vitaminas A, D y E para la dieta.

3. Se registró semanalmente el peso de cada animal y el alimento por él consumido.

Los datos de cambio de peso y alimento ingerido, obtenidos hasta la cuarta semana de experimentación, se utilizaron para calcular el índice de eficiencia proteínica, PER, que se define para un animal como:

$$\text{PER} = \frac{\text{ganancia de peso (g)}}{\text{proteína consumida (g)}}$$

Dentro de cada grupo de animales se calculó individualmente el valor de PER, con los datos de alimento ingerido, contenido de proteína en la dieta y cambio de peso. Con los 8 valores de PER, se obtuvo un valor promedio para el grupo, y la desviación estándar correspondiente.

En el caso de que dentro de un grupo de animales, todos pierdan peso, no es posible calcular un valor de PER, pues no hay ninguna ganancia de peso. En el caso de que dentro de un grupo de animales, algunos ganen peso y otros pierdan peso, se pueden calcular los valores individuales, utilizando el cambio de peso y obtener un valor promedio para el grupo, si éste no resulta negativo; se debe especificar el caso que se haya presentado y el modo en que fue tratado, cuando hay disminuciones de peso. Si se descartan los datos de los animales que perdieron peso y se toman sólo los de los animales que ganaron peso, se le estaría dando un valor de PER al alimento prueba, que no refleja su efecto de causar cambios de peso negativos en algunos animales.

Los datos de cambio de peso y alimento ingerido obtenidos hasta la segunda semana de experimentación, se utilizaron para calcular la razón proteínica neta, NPR.

La razón proteínica neta, NPR, se define para un animal como:

$$\text{NPR} = \frac{\text{ganancia de peso animal GPP}}{\text{proteína consumida animal GPP}} + \frac{\left| \text{pérdida de peso promedio GLP} \right|}{\text{proteína consumida animal GPP}} \quad \left(\frac{\text{g}}{\text{g}} \right)$$

significando GPP, grupo alimentado con proteína prueba;

GLP, grupo alimentado con dieta libre de proteína,

El NPR toma en cuenta la proteína usada por el animal para crecer y también la proteína usada para mantenerse.

Con los datos de cambio de peso de los animales de dieta libre de proteína, se sacó un valor promedio de cambio de peso del grupo. Con el valor anterior y los datos individuales de cambio de peso y alimento ingerido y el valor de contenido de proteína cruda en la dieta, se calculó un valor de NPR para cada animal y luego un valor promedio para el grupo, con la desviación estándar correspondiente.

En el caso de que dentro de un grupo de animales alimentados con proteína prueba, algunos o todos pierdan peso, pero menos que el grupo de dieta libre, se obtienen valores individuales de NPR positivos.

En el caso que un animal pierda más peso del perdido por el grupo en dieta libre de proteína, el valor de NPR que le corresponde, resulta negativo y debe tomarse en cuenta para calcular el valor promedio del grupo; si sucediera lo mismo para todos los animales de un grupo, deberá especificarse lo sucedido.

El presente experimento se continuó hasta la octava semana, para observar posibles efectos de toxicidad del alimento, principalmente mortalidad en los grupos alimentados con proteína prueba. Si se observa mortalidad, esta puede deberse al efecto combinado de toxicidad y mala calidad de la proteína del alimento.

APENDICE F

Estimación de incertidumbre en los valores determinados experimentalmente en el presente estudio.

En este trabajo, los rangos de incertidumbre que se presentan a la par de los valores determinados, fueron estimados por propagación de los errores al azar involucrados en la determinación correspondiente. Esto significa, que conociendo la incertidumbre en cada una de las mediciones hechas a lo largo de la determinación de un valor, se calculó el efecto que esas incertidumbres pueden tener en el valor.

Este procedimiento de análisis de error, fue utilizado en las determinaciones en que no se obtuvo un número de resultados independientes suficiente, para poder hacer el análisis de error estadísticamente, en base a una distribución normal.

La estimación de las incertidumbres se hizo en base a lo siguiente: (Shoemaker et al, 1974)

Un resultado que es función de varias variables $F = f(x_1, x_2, \dots, x_n)$, es obtenido experimentalmente al medir valores de esas variables x_i y relacionarlos por medio de la ley que define la función.

La incertidumbre en el resultado, λ_F , es a su vez una función de la incertidumbre en las variables, λ_{x_i} .

Por lo anterior, un resultado F determinado experimentalmente, se expresa como

$$F \pm \lambda_F = f(x_1 \pm \lambda_{x_1}, x_2 \pm \lambda_{x_2}, \dots, x_n \pm \lambda_{x_n})$$

siendo

$$\begin{aligned} \lambda_F &= \left(\left| \frac{\partial F}{\partial x_1} \right|^2 (\lambda_{x_1})^2 + \left| \frac{\partial F}{\partial x_2} \right|^2 (\lambda_{x_2})^2 + \dots + \left| \frac{\partial F}{\partial x_n} \right|^2 (\lambda_{x_n})^2 \right)^{1/2} \\ &= \left(\sum_{i=1}^n \left(\left| \frac{\partial F}{\partial x_i} \right|^2 (\lambda_{x_i})^2 \right) \right)^{1/2} \end{aligned}$$

Esta definición de la incertidumbre en F , toma en cuenta la alta probabilidad de que los errores al azar en las diferentes mediciones, tienden a cancelarse unos con otros.

Resulta entonces lo siguiente, para algunos resultados F :

$$\begin{aligned} - F = f(x, y) = x + y \quad \text{ó} \quad F = f(x, y) = x - y &\Rightarrow \lambda_F = \left((\lambda_x)^2 + (\lambda_y)^2 \right)^{1/2} \\ - F = f(x, y) = xy &\Rightarrow \lambda_F = \left((y\lambda_x)^2 + (x\lambda_y)^2 \right)^{1/2} \\ - F = f(x, y) = \frac{x}{y} &\Rightarrow \lambda_F = \left(\left(\frac{\lambda_x}{y} \right)^2 + \left(\frac{x\lambda_y}{y^2} \right)^2 \right)^{1/2} \end{aligned}$$

En el caso de haber obtenido un resultado F , de la regresión lineal calculada para una curva de calibración, la incertidumbre en F se calculó por propagación de las incertidumbre de los valores medidos y de las incertidumbres de los parámetros de la línea de regresión.

Se calculó una línea de regresión con n puntos (x,y) . Esta línea, con las desviaciones estándar correspondientes de los parámetros, es:

$$\hat{y} = a_0 (\pm s_0) + a_1 (\pm s_1) x$$

con

$$s_0 = \left[\frac{\sum (y_i - \hat{y}_i)^2}{n-2} \left(\frac{\sum x_i^2}{n \left[\sum x_i^2 - \frac{(\sum x_i)^2}{n} \right]} \right) \right]^{1/2}$$

$$s_1 = \left[\frac{\sum (y_i - \hat{y}_i)^2}{(n-2) \left[\sum x_i^2 - \frac{(\sum x_i)^2}{n} \right]} \right]^{1/2}$$

(según el Stat Pac 1 de la calculadora HP-65).

El resultado F se obtuvo a partir de un valor \hat{x} calculado de la línea de regresión

$$\hat{x} = \frac{y - a_0}{a_1}$$

La incertidumbre en este valor \hat{x} , se calculó por propagación de error de las desviaciones estándar de a_0 , a_1 y y . Se tomó como s_y , la desviación estándar de las distintas mediciones hechas para el mismo y ; lo anterior da una incertidumbre

$$\lambda \hat{x} = \frac{1}{a_1} \left[s_y^2 + s_0^2 + (\hat{x} s_1)^2 \right]^{1/2}$$

En el caso en que el punto $(0,0)$ fue uno de los n puntos (x,y) determinados para obtener la curva de calibración, este punto se repitió varias veces (15 veces) al calcular la línea de regresión. Con ello, se logró restringir bastante el intervalo en el que está definido a_0 , intersección de la línea con el eje de las y , esto es, volver muy pequeño el valor s_0 .

APENDICE G

Análisis de varianza y pruebas estadísticas relacionadas.

En las determinaciones experimentales, en que se obtuvo un buen número de resultados independientes para un valor, se hizo análisis estadístico de error y de varianza para comparación de valores.

Este fue el caso de los valores obtenidos en la evaluación biológica de distintas harinas de almendra de hule: cambio de peso, alimento ingerido, PER. y NPR, valores para cada uno de los cuales se obtuvieron ocho resultados independientes. También se analizó estadísticamente la determinación hecha del valor calórico de las dietas utilizadas en esta evaluación, habiéndose obtenido tres resultados independientes para cada valor.

El análisis estadístico se trabajó según lo recomendado por Snedecor y Cochran (Snedecor and Cochran, 1980).

Se utilizó la prueba de Bartlett para homogeneidad de varianzas, basada en la distribución Chi-cuadrado. Luego se hizo análisis de varianza de una vía, utilizando la distribución de F y utilizando como criterio para establecer diferencias significativas, la diferencia honestamente significativa de Tukey, basada en el rango estudentizado Q.

A lo largo de todo el análisis se trabajó con un nivel de significancia de 0.05.

En el caso de los valores determinados para contenido de cianuro en almendra fresca, en harinas de almendra y en dietas preparadas con estas harinas, hay que tener cautela con las diferencias significativas encontradas, según se indica al pie de los correspondientes cuadros de este trabajo. El análisis de varianza realizado para esos valores no fue estricto, en el sentido de que, se trabajó con resultados dependientes, por carecer de resultados independientes para un mismo valor. Lo anterior significa, que se utilizó el error muestral como estimación del error experimental, debido a que no se contó con grados de libertad para la estimación directa de este último. La significancia del estadístico F, en un caso así, puede ser debida a las diferencias entre tratamientos y/o a las diferencias dentro de cada uno de los tratamientos.

Vo. Po. :

(f) Elvira G. de Mejía
Ing. Elvira G. de Mejía
Asesor

Tribunal:

(f) Elvira G. de Mejía
Ing. Elvira G. de Mejía

(f) Luiz G. Elías
Dr. Luiz G. Elías

(f) Sergio Aragón
Dr. Sergio Aragón

Fecha de aprobación: 20 de febrero de 1982.