

# EFFECTOS DEL TOSTADO SOBRE EL VALOR DE ENERGÍA METABOLIZABLE VERDADERA Y EL CONTENIDO DE FACTORES ANTINUTRICIONALES DE HARINAS DE GRANOS DE *Canavalia ensiformis* (L.)

## Effects of Toasting on True Metabolizable Energy Value and Content of Antinutritional Factors of *Canavalia ensiformis* (L.) Seed Meals

Pablo Pizzani<sup>1</sup>, Rubén Enrique Vargas<sup>1</sup>, Simón Pérez<sup>3</sup>, Adriana Méndez<sup>2</sup>, Coromoto Michelangeli<sup>2</sup> y Liliam Sivoli<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Área Agronomía, Universidad Rómulo Gallegos. San Juan de los Morros, estado Guárico. Venezuela.

<sup>2</sup>Centro de Bioquímica Nutricional, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Central de Venezuela, Apartado Postal 4563. Maracay, estado Aragua, Venezuela. E-mail: ruargas@cantv.net.

<sup>3</sup>Instituto de Ingeniería, IDEA. Sartenejas, estado Miranda, Venezuela

### RESUMEN

El efecto del tostado sobre el valor de energía metabolizable verdadera corregida para balance de nitrógeno nulo (EMVn) y el contenido de factores antinutricionales (FAN) de harinas tostadas de *Canavalia* fue investigado en un ensayo de balance. Adicionalmente, se determinó el contenido de lisina reactiva, la solubilidad de la proteína y el color en las harinas evaluadas. Se asignaron al azar 5 gallos cecotomizados a cada harina (cruda o tostada) a las siguientes temperaturas y tiempos: 180; 200; 220; and 230°C/3 min; 230 y 240°C/2 min; 230 y 240°C/1 min. Cada gallo fue intubado con 40g de harina y las heces fueron recolectadas durante 72 horas. La Concanavalina A (Con A) en las harinas tostadas fue detectada determinando la unión de esta lectina a la mucosa duodenal por inmunohistoquímica. Ninguna de las harinas tostadas mostró actividad hemaglutinante de la Con A, pero se observó unión de esta lectina a la mucosa duodenal con una reacción inmunohistoquímica de moderada a débil. El tostado a 220; 230°C/3 min ó 240°C/2 min redujo la canavanina en más del 90% en relación con la harina cruda. No se observaron diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) entre el valor de EMVn de la harina cruda y el de las harinas tostadas a 200; 220; 230°C/3 min; 240°C/1 ó 240°C/2min mientras que, el tostado a 180°C/3min; 230°C/1min ó 230°C/2min redujo significativamente ( $P < 0,05$ ) la EMVn. La lisina reactiva y la solubilidad de la proteína fueron reducidas ( $P < 0,05$ ) al

augmentar la temperatura y el tiempo de tostado. El color de las harinas fue también afectado ( $P < 0,05$ ) por el tostado. En conclusión, el tostado bajo las condiciones evaluadas, puede reducir significativamente el contenido de FAN de la harina cruda de *Canavalia*. Sin embargo, esta respuesta positiva no incrementó el valor de EMVn de la harina cruda.

**Palabras clave:** *Canavalia ensiformis*, factores antinutricionales, EMVn, concanavalina A, canavanina, tostado, gallos adultos.

### ABSTRACT

The effects of toasting on the True Metabolizable Energy, corrected to zero nitrogen retention (TMEn) and content of antinutritive factors (ANF) present in Jack Beans (JB, *Canavalia ensiformis*) seeds were investigated in a balance trial. Reactive lysine, protein solubility, and color were also determined in experimental meals. Raw JB meal was toasted at the following combinations of temperature and time: 180; 200; 220 and 230°C/3min; 230 and 240°C/2min; and 230 and 240°C/1min. Five caeectomised cockerels were randomly assigned to each JB meal (raw or toasted). Each bird was intubated 40g of a given meal and excreta were quantitatively collected during 72h. Concanavalin A binding to duodenal mucosa was assessed by immunohistochemistry. No hemagglutinating activity was detected in toasted JB but Con A binding to duodenal mucosa ranged from moderate to weak. Toasting JB meal at 220; 230°C/3min; and 240°C/2min reduced the original canavanine content of JB in more than 90%. TMEn value of raw JB was

not improved by toasting. No significant differences were found between TMEn of raw JB and those of JB toasted at 200; 220; 230°C/3min; 240°C/1min or 240°C/2min, whereas toasting JB meal at 180°C/3min; 230°C/1min or 230°C/2min significantly ( $P < 0.05$ ) reduced TMEn. Reactive lysine and protein solubility were reduced ( $P < 0.05$ ) as both temperature and toasting time increased. Meal color was also affected ( $P < 0.05$ ) by toasting. In summary, under the conditions tested, toasting can effectively reduce ANF content in raw JB. However, this positive response did not improve the TMEn value of raw JB.

**Key words:** Jack beans, *Canavalia ensiformis*, TMEn, antinutritive factors, canavanine, concanavalin A, roosters.

## INTRODUCCIÓN

Los granos de *Canavalia ensiformis* pueden representar una fuente apropiada de proteína y energía para las aves [4]. Sin embargo, la presencia de factores antinutricionales (FAN) reduce el aprovechamiento de las distintas fracciones nutritivas por parte de los animales no rumiantes [5, 29]. Varios FAN han sido identificados en los granos de Canavalia, entre los cuales se encuentra la lectina concanavalina A (Con A) [22], la enzima ureasa [6] y dos aminoácidos no proteicos: la canavanina [19, 20] y la canalina [18]. El efecto tóxico de la Con A está asociado con la capacidad que tiene esta lectina de combinarse con los residuos glicosídicos de las membranas del tracto digestivo, lo cual provoca atrofia de las vellosidades intestinales y malabsorción de nutrientes [14] por lo cual, la Con A es considerada el principal FAN en los granos de Canavalia [9]. Una menor proporción de los efectos antinutricionales han sido atribuidos a la canavanina [15]. En general, los estudios disponibles indican que los granos crudos de Canavalia a niveles superiores al 5% de la ración son incompatibles con un adecuado crecimiento y productividad de las aves [13, 14]. Afortunadamente, los efectos negativos de muchos de estos factores antinutricionales pueden ser reducidos o abolidos por procesamientos tecnológicos de los cuales, el tostado ha sido el tratamiento térmico más utilizado [4]. La aplicación de calor, a su vez, puede afectar adversamente el valor nutritivo de los ingredientes por lo cual, es necesario optimizar las condiciones de tostado a fin de establecer aquellas que sean compatibles con una máxima utilización del potencial nutritivo por los animales [28]. Estudios previos han demostrado que los granos de *Canavalia ensiformis* procesados mediante el tostado pueden contribuir a cubrir las necesidades dietéticas de energía y proteína de pollos de engorde [3, 4]. Sin embargo, Campos [4] reportó que el tostado de los granos reduce el contenido de lisina reactiva en comparación con el de los granos crudos, en aproximadamente 10-40%. Estos resultados sugieren que el tostado, si bien reduce el contenido de FAN puede, al mismo tiempo, reducir el valor nutritivo de los granos, incluyendo la energía metabolizable. Hasta ahora, la información disponible en relación con los efectos del tostado sobre la digesti-

bilidad de la energía en las harinas de Canavalia en aves es inexistente. En consecuencia, el objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de varias condiciones de tostado sobre el contenido de FAN; el valor de energía metabolizable verdadera de las harinas granos de *Canavalia ensiformis* y la lisina reactiva. También se avaluó la posibilidad de utilizar la solubilidad de la proteína y el color, como indicadores del efecto del tostado sobre el contenido de FAN en las harinas tostadas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Procesamiento de las harinas de granos de Canavalia

Los granos de *Canavalia ensiformis* (cultivar Tovar), cultivados en el Instituto de Genética de la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela, fueron molidos en un molino de martillo hasta obtener partículas de 0,59 mm de diámetro [31]. Estas harinas fueron posteriormente liofilizadas y almacenadas hasta su uso.

Las condiciones de tostado, en función de temperatura y tiempo fueron: 180; 200; 220 y 230°C/3 min; 230° y 240°C/2 min y 230 y 240/1 min. Estas condiciones fueron seleccionadas en ensayos preliminares utilizando como criterio el contenido de FAN, una vez aplicado el tostado.

### Análisis físico-químico de las harinas tostadas

Muestras de harinas de Canavalia cruda o tostadas fueron analizadas para determinar materia seca [1]; solubilidad de la proteína [2]; lisina reactiva [30]. El color de las harinas fue determinado con un Colorímetro (Hunter Lab Quest Spectro Colorímetro Sphere, EUA, versión 1,03). El método de determinación del color se basa en la determinación de los denominados colores contrastantes presentes en una muestra. La primera dimensión se refiere a la oposición de los colores rojo-verde, la segunda a la oposición de los colores azul-amarillo y la tercera a los colores blanco y negro. La medición del color se fundamenta en la evaluación de las siguientes variables:

- L: índice de claridad y luminosidad (blanco 100; negro 0)
- a: Matiz, indica la longitud de onda predominante (rojo +; verde -)
- b: Intensidad del color (amarillo +; azul -)

La diferencia de color (DC) fue calculada mediante la fórmula propuesta por Northcutt y col. [16]:

$$DC = [(L_1 - L_2)^2 + (a_1 - a_2)^2 + (b_1 - b_2)^2]^{1/2}$$

donde  $L_1$ ,  $a_1$ , y  $b_1$  representan los parámetros de color medidos a la harina de granos de Canavalia cruda y  $L_2$ ,  $a_2$  y  $b_2$  los parámetros de color medidos después de la aplicación de los distintos tratamientos térmicos. Los resultados del análisis de color fueron correlacionados con los valores de canavanina y de lisina reactiva, en las harinas de *Canavalia ensiformis* (cru-

das o tostadas) a fin de explorar su posible utilidad como un método rápido y económico para predecir el contenido de FAN, en las harinas tostadas.

### Estimación de la energía metabolizable verdadera de las harinas

La determinación de la energía metabolizable verdadera corregida para balance de nitrógeno nulo (EMVn) se realizó siguiendo la metodología de Sibbald [23], utilizando la harina cruda de Canavalia como control. Se emplearon 5 gallos adultos cecotomizados de la línea comercial Gold Line por cada harina seleccionada, asignada en forma aleatoria a los gallos. Antes de recibir directamente en el buche, con ayuda de un embudo, 40 g de la harina de Canavalia correspondiente, los gallos fueron ayunados por 24 horas. Las heces fueron recolectadas durante 72 horas ya que trabajos previos [10] indicaron que en el caso de harinas de Canavalia, un periodo de recolección de 48 horas puede no ser suficiente para permitir excreción total de la materia seca no digerida por los gallos bajo experimentación. Adicionalmente, diez gallos adultos fueron mantenidos en ayuno durante la duración del ensayo, con el propósito de estimar las pérdidas endógenas. Al finalizar el periodo de recolección, las heces fueron congeladas a  $-18^{\circ}\text{C}$  hasta su uso.

Los cálculos del contenido de EMVn de las muestras se realizaron mediante la fórmula propuesta por Sibbald [23]:

$$\text{EMVn} = \frac{[\text{MSI} \times (\text{EBA} - \text{ENA})] - [\text{MSE} \times (\text{EBH} - \text{ENH})] - [\text{MSEnd} \times (\text{EBEnd} - \text{ENEnd})]}{\text{MSI}}$$

EMVn = Energía metabolizable verdadera corregida para un balance de nitrógeno nulo (kcal/kg ms)

MSI = Materia seca ingerida (g)

EBA = Energía bruta del alimento (cal/g alimento)

ENA = Energía del nitrógeno del alimento (cal/g)

MSE = Materia seca excretada (g)

EBH = Energía bruta de las heces (cal/g)

ENH = Energía del nitrógeno de las heces

MSEnd = Materia seca del endógeno

EBend = Energía bruta del endógeno

ENend = Energía del nitrógeno endógeno (cal/g)

### Título hemaglutinante de la Con A

La actividad hemaglutinante de la Con A en la harina, cruda o tostada, de Canavalia se determinó mediante la técnica *in vitro* de Kohle y Kaus [8].

### Capacidad combinatoria de la Con A

Con el fin de evaluar la capacidad e intensidad de unión de la Con A residual presente en las harinas tratadas con los

residuos glucosídicos de la mucosa duodenal, 33 pollitos de dos semanas de edad de la línea comercial Arbor Acres fueron ayunados durante 12 horas. Culminado este periodo, se les suministró vía intubación directamente en el buche, una mezcla de harina tostada y solución fisiológica en proporción 1:3. Transcurridas 8 horas, 3 pollitos por cada harina, fueron sacrificados y se procedió a tomar las muestras del asa duodenal, las cuales se fijaron en formol neutro bufferado. Posteriormente, las muestras fueron procesadas de acuerdo a la técnica inmunohistoquímica denominada Complejo Avidita-Biotina (CAB) descrita por Hsu y col. [7] para observar al microscopio, la posible unión de la Con A con la mucosa duodenal.

### Contenido de canavanina de la harina cruda y tostada de Canavalia

La concentración del aminoácido canavanina se determinó por cromatografía de intercambio iónico de acuerdo a la metodología propuesta por Spackman y col. [24].

### Análisis estadístico

Los datos fueron sometidos al Análisis de Varianza (ANAVAR) de acuerdo a un diseño completamente aleatorizado. Cuando el ANAVAR detectó diferencias significativas entre las distintas condiciones de tostado, los promedios fueron separados mediante la prueba de Tukey [21]. El análisis estadístico se realizó utilizando software Statistix [25].

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados indican que el tostado de las harinas de granos de Canavalia, a altas temperaturas por corto tiempo es más efectivo para reducir el contenido de factores antinutricionales en comparación con el tostado de los granos enteros. La concentración de canavanina disminuyó significativamente ( $P < 0,05$ ) con todas las condiciones de tostado evaluadas (TABLA I). Estas reducciones se acentuaron al aumentar el tiempo de exposición al calor. Pérez [17], redujo la cantidad original de canavanina en granos crudos en 90% al tostar los granos a  $194^{\circ}\text{C}$  durante 18 min mientras que reducciones similares (95%) fueron obtenidos en el presente trabajo al tostar harinas de granos en solo 3 min a  $230^{\circ}\text{C}$ . Por otra parte, el tostado de la Canavalia, sea en forma de granos o harinas, es más efectivo para reducir la canavanina en los granos crudos que la extrusión [4, 13, 15] o el autoclavado [6]. Melcion y col. [12] tostaron granos enteros de Canavalia a  $164^{\circ}\text{C}$  durante 26 min y obtuvieron consumos y ganancias de peso de pollos de engorde similares a aquellos que consumieron la dieta control cuando la canavanina de los granos crudos fue reducido en 82,6% [10]. Estas respuestas [4, 10], permitirían anticipar que la utilización de las harinas tostadas a 220 y  $230^{\circ}\text{C}$  durante 3 min o a  $240^{\circ}\text{C}$  por 2 min, deberían ser compatibles con un adecuado comportamiento productivo de pollos de engorde ya que la reducción de canavanina fue de 94; 95 y 93%, respectivamente.

**TABLA I**  
**CONTENIDOS DE ENERGÍA METABOLIZABLE VERDADERA CORREGIDA PARA UNA RETENCIÓN NULA DE NITRÓGENO (EMVn)<sup>1</sup> Y DE CANAVANINA<sup>1</sup> EN HARINAS TOSTADAS DE GRANOS DE *Canavalia ensiformis* / TRUE METABOLIZABLE ENERGY VALUE CORRECTED TO ZERO NITROGEN BALANCE (TMEn) AND CANAVANINE CONTENT IN TOASTED JACKBEAN MEALS**

Harinas de Canavalia (kcal /kgMS)	EMVn (%, base seca)	Concentración Canavanina	Reducción <sup>2</sup>
Cruda (sin tostar)	2395 ± 53 <sup>a</sup>	3,8 ± 0,02 <sup>a</sup>	
Tostada (°C/min)			
180/3	2003 ± 31 <sup>bc</sup>	1,6 ± 0,03 <sup>c</sup>	58
200/3	2176 ± 57 <sup>abc</sup>	0,9 ± 0,01 <sup>e</sup>	78
220/3	2084 ± 70 <sup>abc</sup>	0,2 ± 0,01 <sup>gh</sup>	94
230/1	1854 ± 133 <sup>c</sup>	17 ± 0,04 <sup>b</sup>	56
230/2	1859 ± 55 <sup>c</sup>	0,7 ± 0,02 <sup>f</sup>	81
230/3	2370 ± 54 <sup>ab</sup>	0,2 ± 0,01 <sup>h</sup>	95
240/1	2126 ± 53 <sup>abc</sup>	1,1 ± 0,01 <sup>d</sup>	71
240/2	2130 ± 33 <sup>abc</sup>	0,3 ± 0,01 <sup>g</sup>	93

<sup>1</sup>Valores expresados como media ± error estándar; N = 5. Letras diferentes indican diferencias significativas (P < 0,05) entre los tratamientos.

<sup>2</sup>Calculado según la siguiente fórmula: Reducción =  $\frac{3,8 - \text{valor de harina tostada}}{3,8} \times 100$ .

te, en comparación con la harina cruda (TABLA I). Esta posibilidad, sin embargo, requiere investigación adicional. Los resultados de la determinación de EMVn revelaron que con ninguna de las condiciones de tostado se logró superar el valor de EMVn de la harina de granos crudos de Canavalia. Sin embargo, no se observaron diferencias significativas (P < 0,05) entre las harinas tostadas 200; 220; 230°C/3 min ó 240°C/1 y 2 min al compararla con la Canavalia cruda. El tostado 180°C/ 3.min y 230°C/1 y 2 min redujo significativamente (P < 0,05) la EMVn, en comparación con la harina cruda (TABLA I).

La actividad hemaglutinante de la Con A fue +5 en la harina cruda de Canavalia lo cual se correspondió con una fuerte reacción inmunohistoquímica a la presencia de la Con A (TABLA II, FIG. 1). En el caso de harinas tostadas no se detectó actividad hemaglutinante aunque se observó reacción inmunohistoquímica a la Con A, la cual fue de moderada a débil (TABLA II, FIG. 1). León y col. [9] demostraron que la Con A era responsable del 80% de los efectos sobre el comportamiento productivo causado por dietas que contenían 30% de granos crudos de Canavalia. La TABLA II revela que todas las condiciones de tostado abolieron la capacidad de las harinas de aglutinar glóbulos rojos, propiedad asociada a la presencia de Con A [22]; sin embargo, la Con A fue claramente observada unida a las vellosidades intestinales de los pollos intubados con la harina cruda y con todas las harinas tostadas, aunque en estas últimas la intensidad de la reacción inmunohistoquímica fue menor y varió dependiendo de las condiciones de tostado (FIG. 1). Es posible que esta respuesta haya estado asociada con los cambios conformacionales que sufren las proteínas (como la Con A) por el calor y que disminuyen su solubilidad [27] lo cual sugiere que, aun cuando pudieran persis-

tir contenidos cuantificables de Con A reactiva en las harinas tostadas, la Con A pudo no haber sido suficientemente solubilizada y, en consecuencia, no fue extraída en el medio salino utilizado [26]. La temperatura de 230°C aplicada durante 2 y 3 minutos, respectivamente, y la de 240°C/2 min mostraron una reacción clasificada como débil, es decir, la presencia de Con A se observó solo en el tercio superior de la vellosidad y su intensidad fue marcadamente menor a la de la vellosidad duodenal extraída de pollos intubados con harina cruda (TABLA II, FIG. 1). El resto de las condiciones de tostado resultaron en reacciones moderadas a la Con A. Grados de reactividad similares a la respuesta calificada como débil en el presente trabajo, permitieron la eficiente utilización de 10% de harina de granos tostados en dietas para pollos de engorde [14].

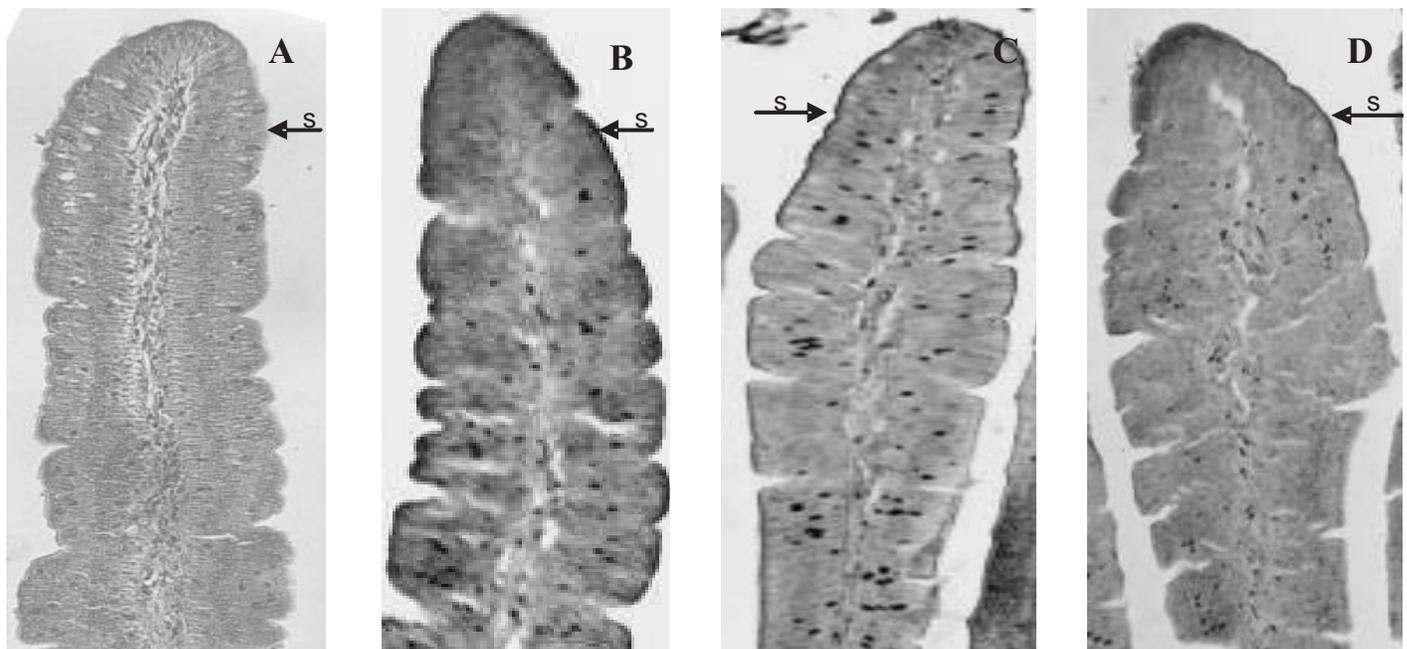
Se observaron diferencias significativas (P < 0,05) entre los tratamientos para cada uno de los distintos parámetros de color, así como también para la diferencia de color (DC), la cual aumenta en la medida que se acentúa el contraste de color respecto de la harina de cruda Canavalia (TABLA III). McNaughton y col. [11] señalan que harinas de soya con valores de L por debajo de 58,5 o por encima de 67,2; y valores de a por debajo de 4 y por encima de 5,8 resultan en inferiores crecimientos de los pollos. Con base en este criterio se podría suponer que los mejores tratamientos resultantes del tostado de las harinas de Canavalia fueron 220°C/3min (L = 57,3; a = 5,3), 240°C/2min (L = 58,3; a = 4,9) 230°C/3min (L = 54,9; a = 5,5); sin embargo, los resultados de Campos [4] sugieren que valores como éstos no predicen la calidad nutricional de las harinas tostadas de Canavalia. Los coeficientes de correlación entre las variables seleccionadas resultantes de los análisis físico-químicos y los resultados de la evaluación nutricional

**TABLA II**  
**TÍTULO HEMAGLUTINANTE (TH) Y CLASIFICACIÓN DE LA REACCIÓN INMUNOHISTOQUÍMICA A LA PRESENCIA DE Con A EN EL DUODENO DE POLLOS DE ENGORDE INTUBADOS CON HARINAS CRUDA O TOSTADAS DE *Canavalia ensiformis* / HEMAGGLUTINATION TITER AND CLASSIFICATION OF THE REACTION OF Con A TO DUODENAL MUCOSA IN CHICKS INTUBATED WITH RAW OR TOASTED *Canavalia ensiformis* MEALS**

Harinas de Canavalia	Reacción <sup>1</sup>					Clasificación
	TH	Fuerte	Moderada	Débil	Negativo	
Cruda (sin tostar)	+5	5	3	2	0	F
Tostada a (°C/min)						
180/3	Negativo	4	4	2	0	M
200/3	Negativo	2	5	2	0	M
220/3	Negativo	1	5	4	0	M
230/1	Negativo	2	4	3	1	M
230/2	Negativo	0	1	6	3	D
230/3	Negativo	0	2	5	3	D
240/1	Negativo	1	3	6	0	D
240/2	Negativo	1	1	8	0	D

<sup>1</sup>Valores de reacción inmunohistoquímica: fuerte (F), moderada (M) y débil (D). La ausencia de reacción se señala como negativo.

N = 10 vellosidades por lámina (ver FIG. 1 para establecer la correspondencia entre los valores de esta tabla y el aspecto histológico de las distintas reacciones).



**FIGURA 1. COLORACIÓN INMUNOSPECÍFICA AVIDINA BIOTINA PEROXIDASA (ABP) DE VELLOSIDADES DUODENALES DE POLLOS DE ENGORDE DE DOS SEMANAS DE EDAD, INTUBADOS CON SOLUCIÓN FISIOLÓGICA (A) O CON MEZCLAS DE ESTA SOLUCIÓN Y HARINA DE GRANOS DE CANAVALIA CRUDA (B) O TOSTADAS A 180°C/3 min (C) Y 230°C/3 min. LAS SECCIONES FUERON FIJADAS CON FORMOL NEUTRO BUFERADO Y POSTERIORMENTE COLOREADAS CON ABP. LA VELLOSIDAD DUODENAL DE LOS POLLOS INTUBADOS CON SOLUCIÓN FISIOLÓGICA NO PRESENTAN REACCIÓN POSITIVA A LA COLORACIÓN EN EL BORDE EN CEPILLO ( FUERTE, CORRESPONDE A LA REACCIÓN POSITIVA A NIVEL APICAL, MEDIA Y BASAL DE LA VELLOSIDAD INTESTINAL EVALUADA (B); LA REACCIÓN MODERADA CORRESPONDE A LA REACCIÓN POSITIVA EN DOS PORCIONES DE LA REGIÓN DE LA VELLOSIDAD EVALUADA (C), Y LA REACCIÓN DÉBIL CORRESPONDE A LA REACCIÓN POSITIVA EN UNA PORCIÓN DE LA VELLOSIDAD ESTUDIADA (D).**

**TABLA III**  
**EFFECTO DEL TOSTADO SOBRE EL COLOR DE LAS HARINAS CRUDA O TOSTADAS DE *Canavalia ensiformis*<sup>1</sup> / EFFECT OF TOASTING ON COLOR VARIABLES OF RAW OR TOASTED CANAVALIA ENSIFORMIS MEALS**

Harinas de Canavalia	Color			DC
	L	a	b	
Cruda (sin tostar)	86,8 ± 0,06 <sup>a</sup>	-0,9 ± 0,01 <sup>h</sup>	11,1 ± 0,13 <sup>h</sup>	
Tostada a (°C/min)				
180/3	81,3 ± 0,03 <sup>b</sup>	0,5 ± 0,04 <sup>g</sup>	16,9 ± 0,06 <sup>a</sup>	8,1 ± 0,04 <sup>h</sup>
200/3	68,9 ± 0,60 <sup>f</sup>	3,4 ± 0,02 <sup>c</sup>	19,3 ± 0,20 <sup>c</sup>	20,3 ± 0,38 <sup>d</sup>
220/3	57,3 ± 0,29 <sup>g</sup>	5,3 ± 0,07 <sup>a</sup>	17,1 ± 0,04 <sup>a</sup>	30,8 ± 0,21 <sup>b</sup>
230/1	79,0 ± 0,07 <sup>e</sup>	0,9 ± 0,04 <sup>f</sup>	16,7 ± 0,07 <sup>f</sup>	9,9 ± 0,14 <sup>g</sup>
230/2	70,2 ± 0,12 <sup>e</sup>	2,9 ± 0,01 <sup>d</sup>	18,5 ± 0,06 <sup>d</sup>	18,6 ± 0,11 <sup>e</sup>
230/3	54,9 ± 0,18 <sup>h</sup>	5,5 ± 0,07 <sup>a</sup>	16,3 ± 0,06 <sup>a</sup>	32,9 ± 0,09 <sup>a</sup>
240/1	76,3 ± 0,00 <sup>d</sup>	1,6 ± 0,00 <sup>e</sup>	16,9 ± 0,00 <sup>e</sup>	12,1 ± 0,07 <sup>f</sup>
240/2	58,3 ± 0,08 <sup>g</sup>	4,9 ± 0,03 <sup>b</sup>	16,9 ± 0,03 <sup>b</sup>	29,7 ± 0,09 <sup>c</sup>

<sup>1</sup>Valores expresados como X ± EE. N = 3. Letras diferentes entre valores de una columna dada indican diferencias significativas (P < 0,05).

<sup>2</sup>Variables de color: L (luminosidad) cuyos valores oscilan desde cero (negro) hasta 100 (blanco); a (matiz) cuyo rango oscila entre (-) verde hasta (+) rojo y b (intensidad) cuyos valores oscilan desde (-) azul hasta (+) amarillo. DC: Diferencia de color calculada según Northcutt y col. [16].

**TABLA IV**  
**CONTENIDO DE LISINA REACTIVA Y SOLUBILIDAD DE LA PROTEÍNA EN HARINAS CRUDA O TOSTADAS DE *Canavalia ensiformis*<sup>1</sup> / REACTIVE LYSINE CONTENT AND PROTEIN SOLUBILITY IN RAW OR TOASTED *Canavalia ensiformis* MEALS**

Tratamientos	Lisina Total <sup>2</sup>	Lisina Reactiva	Reducción de Lisina reactiva <sup>3</sup> (% base seca)	Proteína soluble	Índice (%)
Cruda (sin tostar)	2,04	1,40 ± 0,1 <sup>a</sup>		30,5 ± 0,0 <sup>a</sup>	100,0
Tostada a (°C/min):					
180/3	2,01	0,98 ± 0,0 <sup>c</sup>	30,0	28,0 ± 0,1 <sup>b</sup>	91,8
200/3	1,87	0,86 ± 0,0 <sup>e</sup>	38,6	22,3 ± 0,1 <sup>e</sup>	72,9
220/3	1,30	0,55 ± 0,0 <sup>g</sup>	60,7	15,5 ± 0,0 <sup>f</sup>	50,8
230/1	1,24	1,10 ± 0,0 <sup>h</sup>	63,6	27,1 ± 0,0 <sup>c</sup>	88,9
230/2	1,42	0,92 ± 0,0 <sup>d</sup>	34,3	22,3 ± 0,0 <sup>e</sup>	73,1
230/3	2,01	0,51 ± 0,0 <sup>b</sup>	21,4	14,5 ± 0,0 <sup>g</sup>	47,5
240/1	0,88	1,09 ± 0,0 <sup>f</sup>	45,7	26,3 ± 0,0 <sup>d</sup>	86,1
240/2	1,37	0,76 ± 0,0 <sup>b</sup>	22,1	14,1 ± 0,0 <sup>h</sup>	46,1

<sup>1</sup>Valores expresados como media ± error estándar. N = 2. Letras diferentes entre valores de una columna dada, indican diferencias significativas (P < 0,05) entre los tratamientos. <sup>2</sup>Lisina total determinada cromatográficamente.

nal, indican que la canavanina está positivamente correlacionada (P < 0,05) con la lisina reactiva (r = 0,959) y con la proteína soluble (r = 0,973). La DC experimentó una correlación negativa significativa (P < 0,05) con canavanina, lisina reactiva y proteína soluble. Sin embargo, la poca variabilidad de los valores (aún cuando son estadísticamente distintos) le resta valor práctico a estas mediciones, consideradas individualmente, como indicadores de calidad de las harinas tostadas. Quizás mayor utilidad pueda tener la variable diferencia de color (DC)

propuesta por Northcutt y col. [16] la cual toma en consideración las variables L, a y b. La TABLA III revela que a medida que el valor de DC se aleja del correspondiente a la harina cruda, las variables indicativas del contenido de FAN y del valor nutricional de las harinas tostadas, mejoran. Adicionalmente, la DC mostró alta correlación con canavanina (r = -0,988), lisina reactiva (r = -0,956) y proteína soluble (r = 0,983), lo cual ratifica el potencial de la DC como variable predictiva de la calidad de las harinas tostadas de granos de Canavalia.

La solubilidad de la proteína en KOH también ha sido propuesta para evaluar el efecto del calor sobre la calidad nutricional de harinas proteicas como la soya [2], la cual adecuadamente procesada, debe tener una solubilidad entre 73 y 85% [2]. La solubilidad de la proteína en KOH antes del tostado fue de 30,5%. Con el proceso de tostado, dicha solubilidad se redujo significativamente ( $P < 0,05$ ) a medida que se incrementó el tiempo y la temperatura de tostado pasando de 28,0% a la temperatura de 180°C por 3 min a 14,1% obtenido a 240°C por 2 min. Los tratamientos que menos afectaron la solubilidad de la proteína fueron 180 y 200°C/3 min; 230°C por 1 y 2 min y 240°C por 1 min que presentaron índices de solubilidad de 91,8; 72,9; 88,9; 73,1 y 86,1%, respectivamente, en comparación con la harina cruda (TABLA IV). En este sentido, llama la atención que nuevamente los valores más bajos de solubilidad muestran un menor contenido de FAN (TABLA I, FIG. 1).

La cantidad de lisina reactiva, se redujo significativamente ( $P < 0,05$ ) a medida que se incrementó el tiempo y la temperatura de tostado; aun a temperaturas relativamente bajas 180°C/3 min la reducción fue de 30%; cifra que aumentó a 64% cuando la harina se tostó a 230°C/3 min (TABLA IV). La lisina reactiva mostró una alta correlación positiva con el contenido de canavanina ( $r = 0,959$ ;  $P < 0,05$ ) y aunque pudiera ser un índice satisfactorio para predecir la calidad nutricional de las harinas tostadas, su utilización práctica podría verse limitada por el alto costo de la determinación por métodos cromatográficos.

## CONCLUSIÓN

El tostado de la harina de granos crudos de *Canavalia ensiformis*, bajo las condiciones evaluadas, redujo significativamente ( $P < 0,05$ ) la concentración de canavanina y la capacidad de la Con A de unirse al epitelio intestinal. Los contenidos de lisina reactiva y solubilidad de la proteína fueron reducidos ( $P < 0,05$ ) por el tostado. El color de las harinas fue también afectado por el tostado. Ninguna de las condiciones de tostado evaluadas mejoró el valor de energía metabolizable verdadera de los granos crudos de *Canavalia*.

## AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen el financiamiento recibido del Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad Central de Venezuela mediante el Proyecto CDCH-11.31.3866.97.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[1] ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). **Official Methods of Analysis**. Washington, D.C. EE.UU. 13ª Ed. 324 pp. 1984.

- [2] ARABA, M.; DALE, N.M. Evaluation of protein solubility as an indicator of overprocessing soybean meal. **Poultry Sci.** 69: 76 - 83. 1990.
- [3] BRESSANI, R.; GÓMEZ, R.; GARCÍA, A.; ELIAS, L. Chemical composition, amino acid content and protein quality of *Canavalia* spp. Seeds. **J. Sci. Food Agric.** 40:17-23. 1987.
- [4] CAMPOS, J. Evaluación de las tecnologías de tostado y extrusión para la destoxicación y utilización industrial de la *Canavalia ensiformis*. En la alimentación de pollos de engorde. Postgrado en Producción Animal. Facultades de Agronomía y Ciencias Veterinarias, UCV. Maracay, Venezuela. Tesis de Maestría. 253 pp. 1994.
- [5] D'MELLO, J.P.; ACAMOVIC, T.; WALKER, A.G. Nutritive value of jack beans (*Canavalia ensiformis* L.) for young chicks. **Trop. Agric.** 62:145-150. 1985.
- [6] FAYE, L.; GREENWOOD, J.S.; CHRISPEELS, M.J. Urease in jack bean (*Canavalia ensiformis* L.D.C.) seeds is a cytosolic protein. **Plant.** 168: 576-585. 1986.
- [7] HSU, S.M.; RAINE, L.; FANGER, H. Use of Avidin-Biotin-Peroxidase Complex (ABC) in inmunoperoxidase techniques. **J. Histochem. Cytochem.** 29:577-580. 1981.
- [8] KOLHE, H.; KAUS, H. Improved analysis of hemagglutination assays for quantitation of lectin activity. **Anal. Biochem.** 103:227-229. 1980.
- [9] LEÓN, A.; CAFFIN, J.; PLASSART, M.; PICARD, M. Effect of Concanavalin A from jack bean seeds on short-term food intake regulation in chicks and laying hens. **Anim. Feed. Sci. Technol.** 32:297-311. 1991.
- [10] LEÓN A.; VARGAS, R.E.; MICHELANGELI, C.; MELCIÓN, J.P.; PICARD, M. Detoxification of the Jackbean (*Canavalia ensiformis* L.) with pilot scale roasting. II. Nutritional value for poultry. **Anim. Feed. Sci. Technol.** 73:231-242.
- [11] MCNAUGHTON, J.L.; REECE, F.N.; DEATON, J.W. Relationships between color, trypsin inhibitor contents, and urease index of soybean meal and effects on broiler performance. **Poultry Sci.** 60: 393 -400. 1981.
- [12] MELCIÓN, J.P.; KODAIRA, M.; LEÓN, A.; MICHELANGELI, C.; VARGAS, R.E.; PICARD, M. Detoxification of the jackbean (*Canavalia ensiformis* L.) with pilot scale roasting I. Technological conditions and analytical data. **Anim. Feed. Sci. Technol.** 73:217-230. 1998.
- [13] MELCIÓN, J.P.; MICHELANGELI, C.; PICARD, M. Evaluation of the effect of extrusion cooking of jack bean (*Canavalia ensiformis* L) seed on short-term feed intake in chicks. **Anim. Feed. Sci. Technol.** 46:197-213. 1994.
- [14] MÉNDEZ, A.; VARGAS, R.E.; MICHELANGELI, C. Effects of Concanavalin A, fed as a constituent of jack bean (*Canavalia ensiformis* L.) seeds, on the humoral

- immune response and performance of broiler chickens. **Poultry Sci.** 77:282-289. 1998.
- [15] MICHELANGELI, C.; VARGAS, R.E. L-Canavanina influences feed intake, basic plasma amino acids and kidney arginase activity in chicks. **J. Nutr.** 124:7:1081-1087. 1994.
- [16] NORTH CUTT, J.K.; SAVAGE, S.I.; VEST, L.R. Relationship between feed withdrawal and viscera condition of broilers. **Poultry Sci.** 76: 410-414. 1997.
- [17] PERÉZ, G. Evaluación nutricional de granos tostados de *Canavalia ensiformis* (L.) DC en raciones para cerdos. Facultad de Agronomía. Universidad Central de Venezuela. Tesis de Grado. 111pp. 1997.
- [18] RAHIALA, E.L. Canalina characterization of enzyme. Pyridoxal phosphate complex. **Acta Chem. Scand.** 27:2861-3867.1973.
- [19] ROSENTHAL, G. Preparation and calorimetric analysis of L-Canavanine. **Anal. Biochem.** 77:147-151.1977.
- [20] ROSENTHAL, G. The protective action of a higher plant toxic product. **Biosci.**38:104-109.1988.
- [21] SNEDECOR, G.W.; W.G. COCHRAN. **Statistical Methods.** The Iowa State University Press. 7<sup>th</sup> Ed. Ames, Iowa, USA. 215-233 pp. 1980.
- [22] SHARON, N.; LIS, H. Lectins: cell agglutinating and sugar specific proteins. **Science.** 177 (4053):449-459. 1972.
- [23] SIBBALD, I.R. The T.M.E. System of Feed Evaluation: methodology, feed composition data, bibliography. **Technical Bulletin** 1986-4E. Res. Branch, Agric. Canada, Ottawa, ON, Canada. 114pp. 1986.
- [24] SPACKMAN, D.H.; STEIN, W.H.; MOORE, S. Automatic recording apparatus for use in the chromatography of amino acids. **Anal. Chem.** 30: 1190-1206. 1958.
- [25] STATISTIX. An interactive statistics program for micro-computers. Version 1,1. copyright (c) 1995, NH. Analytical Software. IBM version.
- [26] THOMPSON, L.; GABON, L. Effect of lectins on salivary and pancreatic amylase activities and the rate of starch digestion. **J. Food Sci.** 52(4):1050-1053. 1987.
- [27] VAN BARNEVELD, R.J.; BATTERHAM, E.S. The effect of heat on amino acids for growing pigs. **Br. J. Nutr.** 72:221-241. 1994.
- [28] VARGAS, R.E. **Canavalia ensiformis (L.) DC. Producción, Procesamiento y Utilización en la Alimentación Animal.** Ed. Futuro. San Cristóbal, estado Táchira. Venezuela. 295-296 pp. 1993.
- [29] VARGAS, R.E.; M. CASTILLO; C. MICHELANGELI. Efectos de la melaza de cana sobre el valor nutricional de los granos de *Canavalia ensiformis* en pollos de engorde. **Arch. Lat. Nutr.** 46:163-168. 1996.
- [30] VIROBEN, G. Estimation rapide de la lysine dans les aliments pour animaux. **Revue de L'alimentation Animale.** Marz. 45-51pp. 1985.
- [31] WILCOX, R.A.; DEVOE, C.W.; PFOST, H.B. A method for determining and expressing the size of feed particles by sieving. **Poultry Sci.** 49:9 -13. 1970.