

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



CUCBA



BIBLIOTECA CENTRAL

LABORATORIAL DE SUBSTANCIAS TOXICAS EN LEGUMINOSAS
ANTES Y DESPUES DE TRATAMIENTOS TERMICOS Y QUIMICOS.

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A:

P.M.V.Z. MARIA DELIA LOPEZ RUBIO

DIRECTOR DE TESIS:

M. EN C. ESTHER ALBARRAN RODRIGUEZ

GUADALAJARA, JAL., SEPTIEMBRE 1993

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

LABORATORIAL DE SUBSTANCIAS TOXICAS EN LEGUMINOSAS ANTES Y
DESPUES DE TRATAMIENTOS TERMICOS Y QUIMICOS.

TESIS QUE PARA OBTENER EL TITULO DE MEDICO VETERINARIO
ZOOTECNISTA PRESENTA : P.M.V.Z. MARIA DELIA LOPEZ RUBIO.

DIRECTOR DE TESIS : M. en C. ESTHER ALBARRAN RODRIGUEZ.

GUADALAJARA JAL. SEPTIEMBRE/1993

AGRADECIMIENTOS

A mi Director de Tesis:

Por su ayuda incondicional y confianza desinteresada para mi superación academica.

A mis Maestros y a mis compañeros de escuela por su amistad y comprensión durante todo este largo trayecto de formación.

A Dios : por la gracia de existir; y que a pesar de mis tropiezos ha estado conmigo.

Con mucho cariño, admiración respeto y amor para la persona que a bases de sacrificios y esfuerzos me ha motivado por el camino de la superación y por quien sin su ayuda no hubiera sido posible lograr esta meta anhelada.

A ti Madre: Sra. Delia Rubio Ruiz.

A mis queridos hermanos Dolores, Marina, y en especial a ti Julio por brindarme tu apoyo y estimulo en este camino el cual veo terminado al fin.

A ti Pequeño: porque solo he recibido Amor, Respeto y Paciencia.

GRACIAS.

CONTENIDO

	PAGINAS
RESUMEN	X
INTRODUCCION	1
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	9
JUSTIFICACION	10
HIPOTESIS	11
OBJETIVOS	12
MATERIAL Y METODOS	13
RESULTADOS	19
DISCUSION	34
CONCLUSIONES	44
BIBLIOGRAFIA	45

RESUMEN

Las leguminosas constituyen un potencial alimenticio por su alto contenido de proteína y presencia de aminoácidos; como la Parota Mezquite y Guaje, sin embargo existe factores antinutritivos que impiden su óptima utilización.

Con el propósito de conocer las modificaciones, que por medio de los tratamientos térmicos; se ejerce sobre los factores antinutricionales, se recolectaron el follaje, fruto y semilla de 3 leguminosas silvestres (Guaje, Parota y Mezquite) durante los meses de Enero/Febrero y Mayo/Julio de 1990 y 1991 en diferentes poblaciones del Estado de Jalisco. Las semillas y los frutos se sometieron a 3 tratamientos térmicos y químicos: 1 h 15 lbs de presión, 3 h cocción simple y 1 h 15 lbs + 5% de $\text{Ca}(\text{OH})_2$. Se procedió a deshidratar, moler y pesar las muestras para determinar los factores antinutritivos: Alcaloides, Inhibidores de tripsina, Hemoaglutininas y Glucosidos cianogénicos, con 2 a 3 repeticiones por muestra (180 muestras).

La mayoría de muestras de fruto y semilla sin tratar presentaron las mayores concentraciones de los diversos factores antinutritivos. En semilla de parota los tratamientos reducen hasta en un 74.53% los inhibidores de tripsina.

En semillas de Guaje y Mezquite y en fruto de guaje y parota los resultados indican que la aplicación del calor, presión e $\text{Ca}(\text{OH})_2$ no tuvieron ningún efecto sobre la presencia de inhibidores de tripsina, sin embargo, el mejor tratamiento es el de cocción simple (3 h).

Por lo que respecta a glucosidos cianogénicos solo los dos primeros tratamientos resultaron adecuados, ya que al combinar presión más hidróxido de calcio, aparentemente se aumenta el contenido de este factor, en algunas muestras. Tanto para fruto como para semilla el contenido de alcaloides disminuye por efecto de los tres tratamientos.

En follaje se obtuvieron los valores inhibidores de tripsina: Mezquite tuvo 11.09, Parota 31.85 y Guaje 17.07 U.I.T./mg; Glucosidos cianogénicos para Mezquite 0.89 para Parota 2.25 y Guaje 3.18 ug de CN. En Alcaloides totales en Mezquite 21.3, Parota 2.6 y Guaje 1.2 %

La leguminosa que presentó mayor actividad de hemoaglutinación tanto para follaje, semilla y fruto fue Guaje. En semilla y fruto de Mezquite y Parota se encontró una reducción marcada de la capacidad hemoaglutinante por efecto de los tratamientos.

Se puede concluir que los tratamientos (3 h cocción simple) y (1 h a 15 lbs presión) presentaron, para la mayoría de las muestras analizadas, los mejores resultados en cuanto a la reducción de factores antinutritivos.

INTRODUCCION

Debido a los numerosos productos y beneficios que proporcionan los árboles y arbustos son un patrimonio para todos los habitantes de la tierra. Su importancia ya era reconocida por el hombre desde tiempos muy remotos (26).

Desafortunadamente el hombre ha propiciado la destrucción de extensas zonas de vegetación de diversas partes del mundo en particular en países en desarrollo con recursos forestales (16).

Segun las estimaciones de la FAO (Food and Agriculture Organization) en la actualidad se calcula que mundialmente en las zonas cálidas húmedas los bosques tropicales desaparecen a razón de 150,000 Km cuadrados por año, ésto es un promedio de 25 ha/minuto. Esta cantidad tan alarmante no es más que el fiel reflejo de que el hombre no ha aprendido a coexistir con el medio ambiente natural (16).

México posee una gran variedad de zonas climáticas predominando algunas de éstas; el 40% del territorio Nacional está clasificado como zona árida, en esta región crecen diversas especies vegetales con un valor alimenticio potencial como el nopal (Opuntia sp), la calabacilla (Concubita), el huizache (Acacia) y el mezquite (Prosopis) que se caracteriza por poseer una vaina gruesa, esponjosa y de sabor dulce (6,7, 12).

Por otra parte, en la zona del trópico se localizan numerosas variedades de plantas con valor potencial como

alimento para humanos o animales. Algunas de éstas son la chaya (Nidosculus chayamansa), el saramuyo (Annoa esquamosa), una amplia variedad de Leucaenas (L. esculenta, L. glauca, L. leucocephala) comunmente conocidos como guajes y la parota o guanacastle (Enterolobium cyclocarpum) (12,16).

Las plantas descritas son solo un pequeño porcentaje de la flora nativa mexicana factible de estudio con fines alimentarios. Se calcula que dicha flora esta compuesta por mas de 25,000 especies (Esta cantidad corresponde al 10% de la flora mundial); de éstas aproximadamente 1,500 especies son leguminosas, con amplia distribución en el territorio entre las que se encuentran la PAROTA, MEZQUITES y GUAJES (7,29).

En lo que refiere al estado de Jalisco éste tiene una superficie arbolada de 6'100,000 hectareas (ha) de las que 2'500,000 corresponden a bosques templados fríos, 2'4000,000 a zonas áridas, 600,000 a bosques tropicales, y 600,000 a selvas (18).

Las leguminosas constituyen una extensa familia con características heteróneas donde se encuentran de hierbas pequeñas hasta árboles de gran porte (25).

Desde un punto de vista nutricional las leguminosas representan plantas de gran utilidad por sus granos y forrajes, tanto si se refiere a la alimentación humana, como a la de los animales domesticos (25).

A continuación se describe someramente las características más importantes de estas leguminosas:

Leucana leucocephala (GUAJE):

Arboles con copa irregular de menos 5 m, abierta en la época seca y densa en época de lluvia, alcanzando una altura media de 4-18 m y hasta 30 cm ó mas de diámetro, especie endogena de la Peninsula de Yucatan (17,18,22).

Prosopis juliflora (MEZQUITE):

Es un árbol muy comun en regiones áridas de México. Alcanza una altura de 2 a 15 m, posee ramas irregularmente encorvadas. Su fruto es una vaina (ejote) y las semillas son de un color café-rojizo. Se reproduce en cualquier clima en toda la Republica. Esta extendido en casi todo America (3,24).

Enterolobium cyclocarpum (PAROTA):

Arbol de 30 m de altura y diametro de hasta 3 m, con el tronco derecho, con ramas ascendentes y copa hemisferica generalmente mas ancha que alta, es una especie que se encuentra distribuida por el Vertiente del Golfo desde el Sur de Tamaulipas hasta la Peninsula de Yucatan y en la Costa del Pacifico desde Sinaloa hasta Chiapas (16,21).

Existe información de que el grupo de las leguminosas contienen factores antinutritivos como:

- Glucosidos cianogenicos
- Alcaloides
- Hemoaglutininas
- Inhibidores de tripsina.

Glucosidos Cianogenicos: Estos son compuestos complejos constituidos por un factor quimico no azucarado y un azucar. Cuando el azucar que contiene el compuesto es glucosa se le conoce como glucosido. El termino glucosido deberia limitarse

solo a compuestos que contienen especificamente a la glucosa.

Los glucosidos toxicos incluyen varios compuestos entre los que figuran los glucosidos cianogeneticos que liberan ácido cianhidrico (prusico) y al ser hidrolizados liberan sustancias causantes de bocio, aceites irritantes como el de la mostaza, glucosidos cumarínicos y glucosidos esteroides (cardiacos o saponificantes) su fuente mas importantes es el reino vegetal (15). En el que los generos más representativos son :

-Acacia spp -Holcus lanatus -Digitaria sanguinalis
 -Lotonis laxa -Sorghum spp -Adenia digitata
 -Cerocarpus spp -Eucaluptus spp -Pasifflora spp
 -Zea mays, etc (2).

Las dosis letales encontradas para este grupo de compuestos son:

-Acido cianhidrico puro, la minima dosis letal, por vía digestiva puede señalarse entre 1 y 2 mg/kg para la mayoria de animales. Por ejemplo, para bovinos 1.5, ovinos 2.0 y equinos 2.3 mg/Kg (19).
 - Cianógeno 13 mg/Kg (10).
 -Cianuro potasico, la dosis letal para caballos es de 4-8, bovinos 6-8, perro 1.2-0.5, hombre 0.1-0.15 g/Kg (19).

Alcaloides: Son compuestos organicos complejos con las siguientes características:

- Contienen Nitrogeno
 - Son alcalinos e insolubles al reaccionar con otros compuestos

- Son insolubles en agua
- Forman sales al reaccionar con ácidos.

Se encuentran en gran variedad de plantas, algunos de los géneros mas importantes son: Astragalus (hierbas locas), Claviceps (cornezuelo del centeno), Conium delphinium (espuela de caballero), Nicotiana (tabacos), Solanum (mala mujer, trompillo) y Zingadenus.

Sus dosis letales (DL_{50}) intraperitoneales se encuentran entre 35 y 300 mg/Kg (retrorsina y el menos toxico la heliotrina) (19). Al parecer el mezquite contiene un alcaloide para el que se propuso el nombre de mezquitlina o juliflorina (39).

Hemoaglutininas (LECTINAS): Hemoaglutininas, fitohemoaglutininas, lectinas o fitotoxinas son sustancias extraidas de algunas plantas que tienen la propiedad de aglutinar los hematias, se suelen encontrar en las semillas principalmente y pueden ser extraidas por agua ó solucion salina.

De forma general, se considera que las lectinas vegetales son proteinas de alto peso molecular con propiedades fisicas variables dependientes de la especie y variedad vegetal.

Quimicamente son mucó lipoproteinas, se conocen unas 500 especies vegetales que contienen lectinas, encuadradas en diversos generos como: Ricinus, Croton, Jatropha, Hura, Abrus, Robinia, Cassia, y Glycine.

Dosis del genero Ricinos (ricina) el cual se absorbe por vfa digestiva, conjuntival y pulmonar.

Caballo 0.1 g de semilla / Kg

Ganso 0,4 " "

Conejo 0.9 " "

Cerdo y Ovino 1.2 "

Bovinos 2.0 " "

Caprinos 5.5 " "

Gallina 14.0 g de semilla /kg (19).

ANTIENZIMAS: Entre las antienzimas conocidas se encuentran inhibidores de la colinesterasa, amilasa, invertasa y proteasas. Son muchas las plantas que contienen sustancias inhibidoras de las colinesterasas. Entre ellas podemos citar las hojas del brecol, la raiz de la remolacha, el esparrago, la papa, el nabo y apio.

De estas sustancias la más estudiada y conocida es la solanina existente en la papa principalmente en estado verde. Existen sustancias típicamente inhibidores de la colinesterasa pudiendo citar como ejemplos los insecticidas, organofosforados y carbamatos (19).

Se han realizado investigaciones y estudios acerca de 15 y 16 leguminosas; recolectadas en México para determinar sus analisis proximales obteniendo un valor proteico de 10 al 31.54 % y el valor de grasa fue de 10%, todas las muestras presentaron inhibidores de tripsina, sin embargo solo una (Pithecellobium f.) presento un valor alto 240 Unidades

Inhibidores de Tripsina (UIT) (30-31).

Con la finalidad de proporcionar una mayor disponibilidad a las leguminosas se han intentado tratamientos químicos y físicos que disminuyan o eliminen los factores antinutritivos; a continuación se enlistan algunos de estos:

1.- Mediante la limpieza-desenvainado-limpieza del grano-remojo en agua durante 2 horas y después un tratamiento térmico en autoclave 30 minutos/16 lb a 121 °C -descascarillado-secado en horno de aire caliente a 70 °C-molienda a un grueso de 80 mallas, se encontró una reducción de los factores antifisiológicos principalmente antitripsico, saponina y mimosina (39).

2.- En tratamiento térmico de alta presión, los frutos completos de parota en un autoclave con capacidad de 300 litros. Se mantuvo el material sumergido en una solución acuosa de hidróxido de calcio común en relación 2:1 volumen en solución/peso del fruto por 45 minutos a 15 lb de presión por centímetro cúbico y 120 °C se reducen los factores antitripsicos, saponinas y la mimosina (32).

3.- Se llevó a cabo un experimento utilizando maíz amarillo con pasta de soya/ harina de hojas de Leucaena leucocephala (HHL) en 5 dietas para pollos de 1 a 5 semanas conteniendo 15% de HHL sometida a tiempos de 0,15,30,45,60 minutos de cocción en autoclave (121 °C). El contenido de mimosina fue de 5.82,5.66,5.70,5.23,5.02 % (No se observaron efectos beneficios) (13).

4.- En un experimento con 210 pollos de 1 a 5 semanas, utilizando sorgo más pasta de soya y la inclusión del 15 y 20% de harina de hojas de Leucaena (HHL) (sometida al 2% de FeSO_4 -autoclave 15 minutos, 15 libras). Los resultados que se obtuvieron fueron baja conversión alimenticia y disminución del porcentaje de mimosina en un 3% (13).

Por lo señalado resulta evidente que el grupo de las Leguminosas representan un potencial, por sus aceptables contenidos de proteína (15 al 35 %) y carbohidratos (20-50 %), sin embargo se deben caracterizar sistemáticamente la presencia y posible eliminación de factores antinutritivos como hemoaglutininas, alcaloides, inhibidores de tripsina y glucosidos cianogenicos, los cuales representan el principal obstaculo para su utilización integral y que sin embargo solo se han abordado de manera aislada.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En la actualidad las leguminosas silvestres se utilizan solo en ciertas áreas o regiones del país tanto para la alimentación animal como humana. Sin embargo, es evidente que representan un potencial alimentario primero, por su adecuado contenido proteico y de carbohidratos, nutrimentos indispensables y escasos en la actualidad; además de que la mayoría de leguminosas son adaptables a climas diversos y cuentan con una gran producción.

Sin embargo estos recursos naturales son utilizados en forma limitada por la presencia de factores antinutritivos, los cuales pudieran ser eliminados por tratamientos térmicos y químicos como sucede con el frijol, la soya. Las semillas de las leguminosas silvestres podrían utilizarse para la alimentación humana y el follaje y fruto para la alimentación animal, sin riesgo de intoxicación.

JUSTIFICACION

Existen una gran variedad de leguminosas silvestres que se utilizan muy poco en la alimentación animal y/o humana. Como algunas especies del género Prosopis; Leucaena; Enterolobium; cuyo porcentaje proteico va del 23 al 32 %.

Sin embargo algunos trabajos mencionan que existen factores antinutritivos en estas leguminosas (Alcaloides, Hemoaglutininas, Glucosidos cionogenicos, Inhibidores de tripsina).

Por lo cual la finalidad principal de este estudio es demostrar si los tratamientos termicos y quimicos disminuyen o eliminan los factores antinutritivos y una vez caracterizados, sugerir algunas bases para utilizarlos en forma adecuada e integral en la alimentación animal y/o humana.

HIPOTESIS

El follaje; fruto y semilla de guaje, parota y mezquite (leguminosas silvestres) tiene un adecuado valor nutritivo, sin embargo por la presencia de factores antinutritivos que en su mayoría son termolabiles no son empleados adecuadamente.

Entonces al someterlos a diversos tratamientos fisicos/quimicos se eliminan dichos factores antinutritivos lo que permitira la utilización de estos ingredientes para la alimentación animal y humana.

OBJETIVO GENERAL

Establecer bases teoricas que propicien la incorporación de leguminosas silvestres (follajes, fruto y semillas) como ingredientes en la alimentación humana y/o animal.

OBJETIVOS PARTICULARES

- 1.- Estandarizar las técnicas cuantitativas para estimar alcaloides, inhibidores de tripsina, glucosidos cianogenicos y hemoaglutininas.
- 2.- Caracterizar al follaje; fruto y semillas de 3 leguminosas silvestres sobre su contenido de factores antinutritivos.
- 3.- Someter al fruto y semillas de mezquite, guaje y parota a tratamientos termicos (cocción simple y a presión) y quimicos.
- 4.- Establecer las diferencias de la presencia de factores antinutritivos despues de los tratamientos termicos y quimicos.

MATERIAL Y METODOS

Para el presente trabajo se utilizó el follaje, fruto y semillas de 3 leguminosas silvestres (Mezquite, Guaje y Parota) recolectados durante los meses de Enero/Febrero y Mayo/Julio, en algunas localidades del estado de Jalisco. Los municipios muestrados fueron el Limón, la Huerta, Puente Grande, Zapopan y Jocotepec, se tomaron 3 muestras por municipio y por lo menos 3 municipios por leguminosas ha analizar.

Las muestras se reunieron en el Laboratorio de Nutrición del Dpto. de Investigación de la F.M.V.Z. donde se sometieron a los tratamientos termicos y quimicos: a) 1h-15 lb, b) 3 h cocción simple y c) cocción a 15 lb, 1 h y 5% Hidroxido de Calcio Ca(OH)_2

Asi mismo se determinaron la presencia de factores antinutritivos antes y despues de los tratamientos ya descritos. Las tecnicas utilizadas se enlistan a continuación (el numero de repeticiones fue de 2 a 3 por muestra).

a) Determinación de la Actividad Inhibidora de Tripsina.
Se peso 1 g de la muestra molida a traves de una criba de 1mm para depositarla en un matraz de 120 ml y agregarle 50 ml de NaOH 0.01 N y se dejo reposar durante 3 horas, comprobar que el pH de la suspensión esta entre 8.4 y 10. Diluir esta suspensión a un punto que 1ml produzca una inhibición de tripsina del 40-60%.

Se prepararán 2 series de tubos tomando 0.0, 0.6, 1.0, 1.4, 1.8 y 2.0 ml de la suspensión diluida de la muestra. Se completarán con agua hasta 2ml y mezclar. Se adicionarán 2ml de la solución de tripsina a cada tubo, excepto el que contiene los 2.0 ml de la suspensión de la muestra. Colocar los tubos en un baño de agua a 37 °C y agregar 5 ml de solución BAPNA precalentada a 37°C y mezclar bien. Parar la reacción a los 10 minutos, adicionando 1ml de ácido acético al 30%. Al tubo 2.0, se le agregará tripsina. Medir la densidad óptica a 410 nm (36).

b) Determinación Espectrofotométrica de Glucosidos Cianogénicos.

Se pesarán 10 g de muestra, colocarlos en un matraz de Kjeldahl de 800 ml, agregar 250 ml de agua acidulada (ácido clorídrico) perlas de vidrio y antiespumante (trozos de Parafina). Se conectó el matraz al destilador de Kjeldahl. En el matraz colector poner 25 ml de agua. Tener cuidado de que el tubo del condensador quede dentro de la solución.

Dejar reposar 2 horas, al cabo de este tiempo iniciar lentamente la destilación cuidando que no pase espuma al matraz colector (ya que dependiendo de la muestra, en ocasiones no es suficiente agregar el antiespumante), destilar aproximadamente 100 ml. Afórar el destilado a 150 ml con agua destilada. Tomar alícuota de 25 ml (el pH puede variar de 2 hasta 10) colocarlos en un matraz volumétrico de 50 ml, agregarle 1 ml de solución de cloramina T al 1 % agitar, tapar, y dejar reposar durante 1 minuto. Agregar 3 ml de Solución reactiva (ácido

barbiturico, piridina y ácido clorhídrico). Aforar con agua bidestilada, leer después de 8 minutos a 570 nm contra un blanco (Agua bidestilada) (36).

c) Análisis Cuantitativo "Alcaloides totales" Método de Cundiff-Markunas.

Se pesarán 2.5 gramos de la muestra desecada y triturada para colocarlo en un matraz Erlenmeyer de 250 ml y adicionar 15 ml de ácido acético al 5 %. El matraz se debe agitar para que la muestra se impregne, posteriormente agregar 100 ml de la solución benceno-cloroformo (1:1) en el matraz, 10 ml de solución NaOH al 36 %, se tapo herméticamente y agitar durante 20 minutos. Para filtrarse, se utilizó papel Whatman número 2. Se tomaron 25 ml del filtrado en un matraz Erlenmeyer de 125 ml, después se oxigenara la superficie del matraz durante 5 minutos, y adicionarán 2 gotas de indicador para titularlo a un punto final de color verde con 0.025 N. de HClO4.

$$V_1 \times N \times 32.45$$

$$\% \text{ total de Alcaloides} = \frac{\text{-----}}{\text{PESO DE LA MUESTRA.}}$$

PESO DE LA MUESTRA.

N = normalidad V₁ = volumen titulado (27).

d) Determinación Semicuantitativa de Hemoaglutininas.

Se lleva a cabo con una técnica de diluciones seriadas en la cual se determino el punto final por una estimación visual de la aglutinación de los glóbulos rojos.

El método de microtitulación es rápido y requiere una mínima cantidad de muestra. Se necesita trabajar con glóbulos lavados

y activados con una solución de proteasa disponible para mejorar la aglutinación.

Cuando la sangre se va a trabajar inmediatamente se puede utilizar ya sea solución de heparina o citrato, las cuales se usan en la siguiente relación:

Sol. heparina sangre = 15-20 UI : 1 ml sangre

Sol. citrato sangre = 1 ml : 1 ml de sangre.

* Si la sangre no se trabajo de inmediato se debe conservar en refrigeración, usar como solución anticoagulante, la solución ELSEVER en la siguiente proporción 1:1.

La sangre con anticoagulante se vierte a tubos de centrifuga para lavarla (3 veces) con solución salina al 0.9 %. La relación sangre: solución salina es aproximadamente 1:5. Se centrifuga a 1500 rpm durante 10 minutos despues del ultimo lavado, se mide en el tubo de centrifuga; la cantidad de paquetes de eritrocitos y se diluyen al 40 %, lo cual se agregan por cada ml de globulos rojos 24 ml de solución salina al 0.9 % .

A cada 10 ml de suspensión de globulos rojos al 4 % agregarles 1 ml de solución de tripsina al 0.1 % en solución salina y colocarlos en incubadora por espacio de 1 hora a 37°C.

Despues del tiempo estipulado, centrifugar para eliminar la enzima sobrenadante dando además 3 lavados con solución salina al 0.9 %. Se resuspende el paquete de globulos rojos al 5 % por lo cual a cada ml de paquete de eritrocitos se le adiciona 19 ml de solución salina 0.9%.

Se toma 1 ml de la suspensión de globulos rojos ya

sensibilizada y se agregan 4 ml de solución salina al 0.85 %. Se lee al espectrofotometro a 620 nm usando un adaptador de celdas que permita el paso de solo 1 cm cuadrado de luz y como blanco solución salina al 0.85%.

La lectura que se debe obtener \pm 2 de trasmittancia en caso contrario se realizara la dilución necesaria para que nuestra suspensión de globulos quede dentro de dicho rango.

En las placas tipo "V" del microtiter; colocar en cada pozo 50 ul de solución salina al 0.85 % con el pipeteador de gota evitando tocar las paredes del pozo.

Llenar el microdilutor de 50 ul por contacto con la superficie del extracto problema y se procedera a realizar las diluciones sucesivas en la hilera escogida; introduciendo el microdilutor en el pozo y rotándolo sin excesiva presión.

Con el pipetero de gota colocar en cada pozo 50 ul de la suspensión de globulos rojos sensibilizada y ajustada. Luego se rota la placa en forma circular y se lleva a la incubadora a 37°C por espacio de una hora.

Una vez trascurrido el tiempo estipulado se coloca la placa de plastico sobre el dispositivo de lectura. Se observa a través del espejo el fondo de los pozos de cada hilera de prueba. Se reporta la maxima dilución que presente aglutinación (9).

Los datos resultantes se sometieron a un análisis estadístico ANVA completamente aleatorizado y en los casos que se presentó diferencia significativa se aplicó la Prueba de Diferencia Mínima Significativa (DMS), a un nivel de significancia del 0.05.

RESULTADOS

A) INHIBIDORES DE TRIPSINA

Al analizar las semillas de las 3 leguminosas se encontró que: para Mezquite, los valores de las semillas sin tratar y las que fueron sometidas a los diversos tratamientos son estadísticamente semejantes oscilando entre 45.20 y 22.63 U.I.T./mg. Se observa una ligera disminución en el contenido de este factor antinutritivo por efecto de los tratamientos siendo más evidente cuando se combina calor, presión e hidróxido de calcio.

Para Guaje las semillas sin tratar y aquellas sometidas a alguna modificación (tratamiento) son estadísticamente iguales con un rango de 15.4 a 29.73 U.I.T./mg, sin embargo, se observa una disminución de este factor en las semillas sometidas a presión y a ebullición simple, no así para el último tratamiento (1 h, 15 lbs y Ca(OH)_2) cuyo valor fue de 35.27 U.I.T./mg.

Por lo que respecta a parota se presentó una disminución de inhibidores de tripsina por efecto de los tratamientos empleados. Las semillas sin tratar tuvieron 122.63 U.I.T./mg siendo estadísticamente diferentes de las tratadas cuyos valores fueron de 20.77 a 43.87 (Grafica No 1).

Al analizar los frutos de las tres leguminosas se encontró que Mezquite sin tratar tuvo un valor de 47.25

U.I.T./mg siendo estadísticamente mayor que aquellos sometidos a los diversos tratamientos experimentales, la disminución de este factor es marcada en los tratamientos con presión (32.18 U.I.T./mg) y presión más hidróxido de Calcio (20.02 U.I.T./mg), un efecto menos evidente se observó en el tratamiento con ebullición simple (3 h cocción) cuyo valor fue de 39.60 U.I.T./mg.

En el fruto de guaje se observó que los valores no difieren estadísticamente entre sí, sin embargo, el tratamiento físico-químico (1 h a 15 lbs, 5% $\text{Ca}(\text{OH})_2$) tiene el valor mayor 55.04 U.I.T./mg. Para el tratamiento 2 (3 h ebullición) el valor es de 42.115 y para el tratamiento No. 1 (1 h a 15 lbs presión) el valor es de 27.445, siendo menor, aunque no significativamente, que el fruto sin tratar cuya concentración fue de 39.21 U.I.T./mg

Para fruto de Parota se observó que los tratamientos No 1 (1 h a 15 lbs presión) y 3 (1 h a 15 lbs, 5% $\text{Ca}(\text{OH})_2$) son semejantes con valores de 40.18 y 40.4566 U.I.T./mg. En el tratamiento No 2 (3 h de ebullición) es evidente un aumento en la concentración de este factor antinutritivo (46.34 unidades). Por último el fruto sin tratar tiene el valor mayor con 58.51 U.I.T./mg. (Gráfica No. 2).

B) GLUCOSIDOS CIANOGENICOS

En Mezquite las semillas sin tratar tienen un valor de 0.357 ug de CN, en el tratamiento No 3 (1 h 15 lbs y $\text{Ca}(\text{OH})_2$) se presenta un ligero aumento, con un valor de 1.12 ug de CN.

Los demas tratamientos son estadisticamente semejantes, a la semilla sin tratar, con valores de 0.317 a 0.422 ug de CN.

En cuanto a Guaje, los resultados que se obtuvieron varian significativamente entre si, se encontró que el tratamiento No 1 (1h, a 15 lbs presión) presentó una concentración de 3.415 ug de CN, semejante al de las semillas de Guaje sin tratar, que tuvieron un valor de 3.094, diferentes estadisticamente del resto de grupos ya que el tratamiento No 3 (1 h a 15 lbs y $\text{Ca}(\text{OH})_2$ tuvo un valor de 2.13, y el tratamiento No 2 (3 h cocción simple), presentó una disminución considerable en la presencia de glucosidos cianogenicos (0.308, ug de CN).

En cuanto a Parota se observó que los datos varian considerablemente, el tratamiento No 3 (1 h,15 lb y $\text{Ca}(\text{OH})_2$ presento la mayor concentración de glucosidos (3.993 ug de CN). El tratamiento No 2 (1 h,15 lbs presión) tiene un valor de 3.416 ug de CN, la semilla sin tratar tuvo un valor de 2.78 ug de CN sin diferencias estadisticas entre ellos y por ultimo se encontró que el tratamiento No 2 (3 h cocción simple) presentó la mimina concentración de este factor 0.489 ug de CN (Grafica No 3).

Al analizar los frutos se encontró que para Mezquite el fruto sin tratar tuvo un valor de 1.56 ug de CN siendo el mayor y que difiere estadisticamente de aquellos sometidos a los diversos tratamientos, el tratamiento No 3 (1 h,15 lbs y 5% $\text{Ca}(\text{OH})_2$ tiene una concentración de 1.025 ug de CN, los 2 tratamientos restantes son estadisticamente similares, con

valores de 0.572 a 0.668 y por lo tanto con la minima presencia de este factor.

En fruto de Guaje, el tratamiento No 3 (1 h, 15 lbs presión y 5% Ca(OH)_2) tiene un valor de 1.54 ug de CN con diferencia significativa, el fruto sin tratar y los tratamientos de 1 h, 15 lbs presión y 3 h de cocción son estadisticamente similares con valores de 0.823 a 0.899 ug de CN.

Se aprecia que el fruto de parota sin tratar presentó el valor mas alto de glucosidos cianogenicos (2.58 ug de CN), con una disminucion en el contenido de este factor por efecto de los tratamientos, el No 3 (1 h, 15 lbs y 5% Ca(OH)_2) presentó un valor de 1.46 ug de CN, los tratamientos restantes son estadisticamente semejantes entre si, con valores de 0.315 a 0.525 ug de CN. (Grafica No 4).

C) ALCALOIDES TOTALES

En semillas de Mezquite se observaron variaciones en el contenido de alcaloides pero sin diferencias estadisticas. En el tratamiento No 1 (1 h a 15 lbs) la concentración de este factor antinutritivo fue mayor con un valor de 20.83 %, a partir de este existe una disminucion en los demas tratamientos, No 2 (3 h de ebullición) y No 1 (1 h a 15 lbs) con valores de 16.80 a 10.22 %, respectivamente. Por ultimo, en la semilla sin tratar se encontró una concentración de valor es de 13.30 %.

Por lo que respecta a Guaje, la semilla sin tratar presentó el mayor contenido de alcaloides con un porcentaje de 16.08. El tratamiento No 3 (1 h a 15lbs y 5% Ca(OH)_2) presenta una ligera disminución en la concentración de este factor, 14.78 (%). Se observa que el tratamiento No 2 (3 h de ebullición) tuvo un valor de 9.344 (%) y que el tratamiento No 1 (1 h a 15 lbs) con un porcentaje de 2.32, presentó una disminución marcada.

Por último se encontró que la semilla de parota sin tratar presentó una elevada concentración de alcaloides con un valor de 36.29. Se observa una disminución marcada por efecto de los tratamientos, donde al someter las semillas a 3 h de ebullición y a 1 h 15 lbs de presión se encontraron porcentajes de 16.35 y 14.76, semejantes entre si, pero diferentes del resto de los valores, el tratamiento No 3 (1 h a 15 lbs y 5% Ca(OH)_2) presentó la mínima concentración de Alcaloides Totales con un valor de 6.039 % (Grafica No 5).

El Fruto de mezquite sin tratar presenta un porcentaje mayor de alcaloides con un valor de 49.893 difiriendo estadísticamente de las muestras tratadas: el tratamiento No 1 (1 h a 15 lbs) con valor de 36.342% representa una diferencia marcada. Los demás tratamientos son estadísticamente similares entre si y con diferencia significativa con los valores anteriores.

Por lo que respecta a guaje el fruto sin tratar tiene la mayor concentración de (17.518%), difiriendo estadísticamente

de los frutos tratados, cuyos valores son muy similares con un rango de 7.633 a 5.115%.

En el Fruto de parota sin tratar se obtuvo un valor de 26.910% estadísticamente diferente al fruto tratado cuyas concentraciones de alcaloides fueron de 6.72 a 3.67 (%) (Grafica No 6).

D) FACTORES ANTINUTRITIVOS EN FOLLAJE

Se analizó el contenido de factores antinutritivos en follaje de Mezquite, Parota y Guaje se obtuvieron la media y desviación estandar. Para Parota el valor de Inhibidores de Tripsina fue de 31.85, en Guaje y Mezquite los valores son de 17.07 y 11.09 U.I.T./mg.

En Glucosidos Cianogenicos los resultados varian en cuanto a la especie donde Mezquite tuvo un valor minimo de 0.89, Parota presentó un valor intermedio de 2.25 y Guaje 3.18 ug de CN.

Para Alcaloides totales la media mayor fué de 21.3 para Mezquite, los demas valores fueron 2.6 para parota y el valor minimo de 1.2 (%) para guaje (Cuadro No 1).

E) HEMOAGLUTININAS

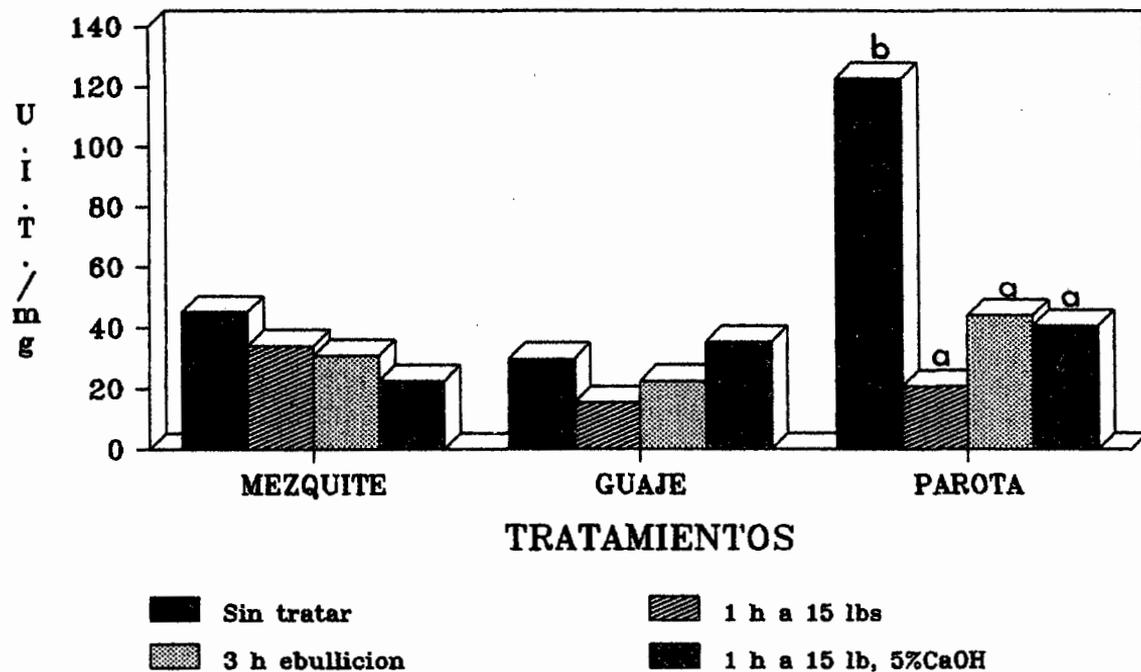
Se realizó una estimación cualitativa de la presencia de hemoaglutininas. En follaje de Mezquite no se encontró presencia de este factor, sin embargo al analizar la semilla y fruto se observó una escasa presencia de este factor, el cual disminuye al someter las semillas al tratamiento con presión

más hidroxido de Calcio. Para fruto completo los tratamientos no modifican la actividad de hemoaglutinación, siendo de escasa a moderada.

En parota el follaje resultó negativo a la presencia de hemoaglutinación, la semilla sin tratar y sometida al tratamiento de 3 h cocción simple presentaron una hemoaglutinación escasa, en cambio las semillas sometidas a tratamiento físico y físico-químico no presentaron dicho factor. En el fruto de parota sin tratar hay una hemoaglutinación moderada y en los sometidos a tratamientos no se encontraron actividad de hemoaglutinación.

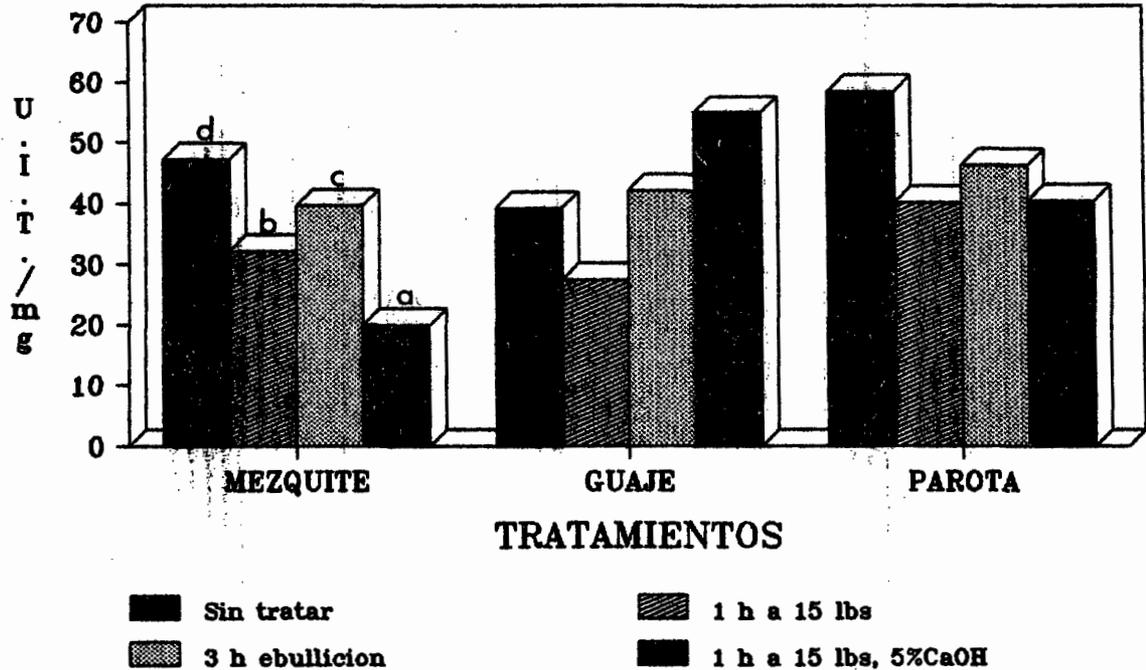
En Guaje tanto follaje, semilla y futo sin tratamiento y con tratamiento presentaron una escasa a moderada hemoaglutinación, en semillas no disminuye dicha actividad por efecto de los tratamientos, sin embargo para fruto todos los tratamientos aplicados son parcialmente efectivos. (Cuadro No 2).

GRAFICA No.1 INHIBIDORES DE TRIPSINA DE LAS SEMILLAS DE 3 LEGUMINOSAS.



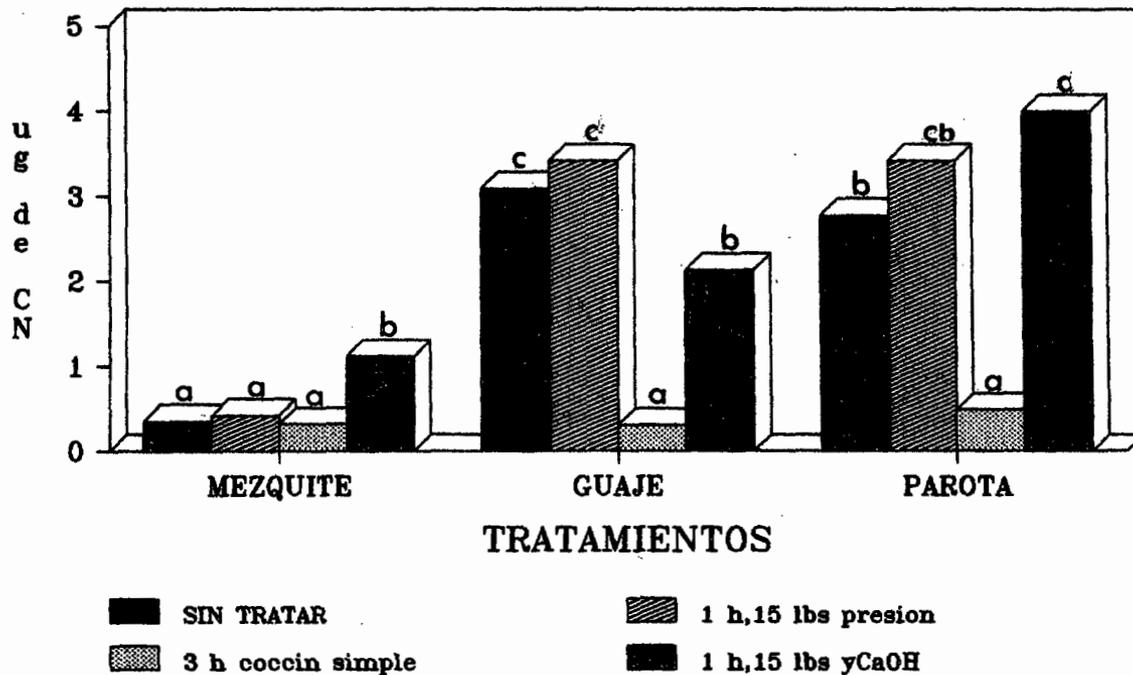
a,b indican diferencia estadística a $p < 0.05$

GRAFICA No 2 INHIBIDORES DE TRIPSINA DEL FRUTO DE 3 LEGUMINOSAS.



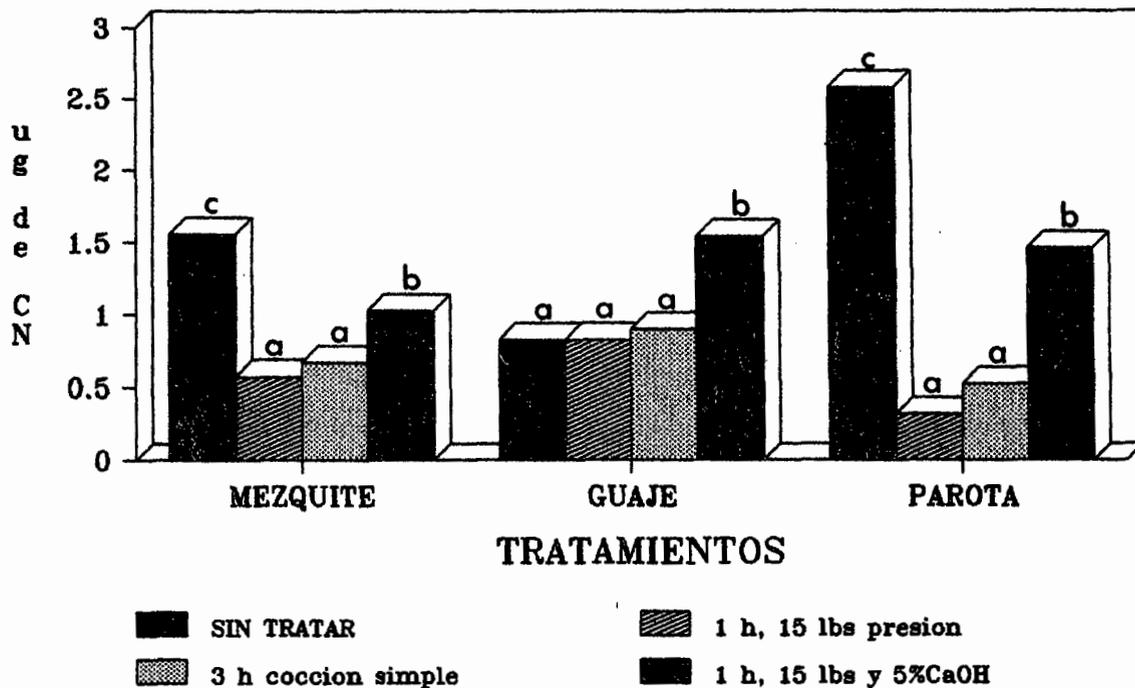
a,b,c y d indican diferencia estadística a un nivel $p < 0.05$

GRAFICA No 3 GLUCOSIDOS CIANOGENICOS DE LAS SEMILLAS DE LEGUMINOSAS.



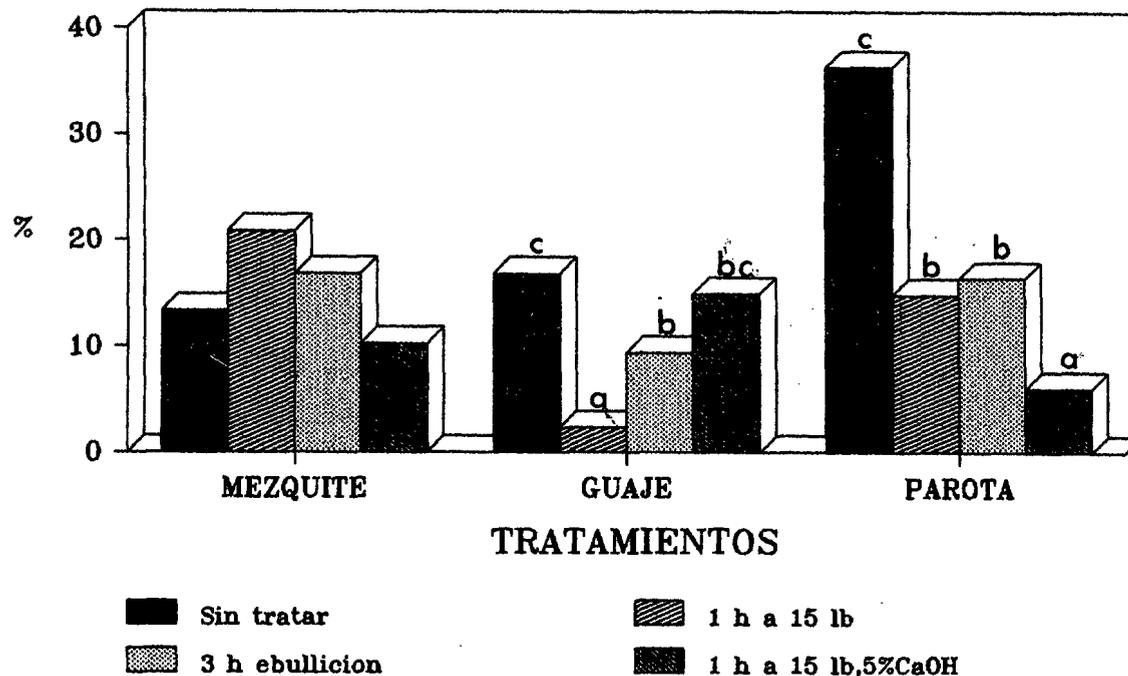
a,b,c indican diferencia estadística a un nivel $p < 0.05$

GRAFICA No 4 GLUCOSIDOS CIANOGENICOS DEL FRUTO DE LEGUMINOSAS.



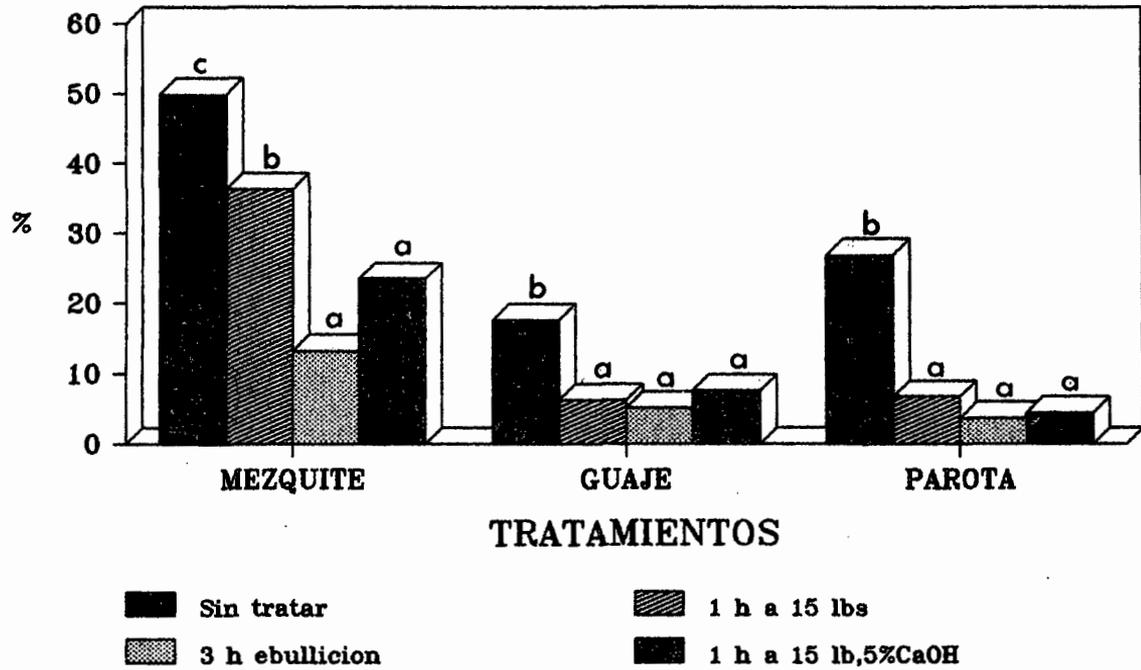
a,b,c indican diferencia estadística a un nivel nivel $p < 0.05$

GRAFICA No 5 ALCALOIDES DE LAS SEMILLAS
DE MEZQUITE GUAJE Y PAROTA.



a,b,c indican diferencia estadística a un nivel $p < 0.05$

GRAFICA No 6 ALCALOIDES DE LOS FRUTOS DE MEZQUITE GUAJE Y PAROTA.



a.b.c indican diferencia estadística a un nivel $p < 0.05$

**CUADRO NO.1 FACTORES ANTINUTRITIVOS EN
FOLLAJE DE LEGUMINOSAS**

LEGUMINOSA	INHIBIDORES DE TRIPSINA (UIT/mg)	GLUCOSIDOS CIANOGENICOS (ug de -CN)	ALCALOIDES TOTALES (%)
MEZQUITE	11.09 ± 2.40	0.89 ± 0.12	21.3 ± 0.65
PAROTA	31.85 ± 9.30	2.25 ± 0.90	2.6 ± 0.20
GUAJE	17.07 ± 0.07	3.18 ± 0.09	1.2 ± 0.30

VALORES: MEDIA ± DESVIACION ESTANDAR

**CUADRO NO.2 VALORACION CUALITATIVA DE
HEMOAGLUTININAS EN 3 LEGUMINOSAS.**

ELEMENTO Y TRATAMIENTO	MEZQUITE	PAROTA	GUAJE
FOLLAJE	-	-	+
SEMILLA	+	+	++
I SEMILLA	-	-	++
II SEMILLA	+	+	++
III SEMILLA	-	-	++
FRUTO	+	++	++
I FRUTO	++	-	+
II FRUTO	+	-	+
III FRUTO	+	-	+

VALORES: +++ HEMOAGLUTINACION ABUNDANTE

++ " **MODERADA**

+ " **ESCASA**

- " **NULA**

I = Tratamiento 1h, 15lb

II= " 3h coccion simple

III= " 1h, 15lb + 5%Ca(OH)₂

DISCUSION

En el presente trabajo al analizar el contenido de Inhibidores de Tripsina se encontró que en semilla de Mezquite los resultados fueron de 45.20 y 22.63, sin diferencia estadística por efecto de los tratamientos.

En lo que respecta a Parota la semilla sin tratar tuvo un valor considerablemente alto 122.63 U.I.T./mg dicha concentración disminuye por efecto de los tratamientos con valores de 43.87 a 20.77. Se han realizado otros trabajos en cuanto al contenido de inhibidores de tripsina, Giral.F y col. obtuvieron para Mezquite (Prosopis juliflora) 38.41 y para Parota (Enterolobium cyclocarpum) 24.04 U.I.T./mg, sin embargo, en otras leguminosas como maquacata (Pithecellobium flexicaule) se encontró un valor de 240 U.I.T./mg (30).

Una aportación de Francisco del Valle y Col del Instituto Nacional de la Nutrición menciona que el Mezquite (Prosopis sp) tiene una actividad antitripsica de solo 1.4 U.I.T./mg (11).

En otros trabajos se ha publicado que para leguminosas como la soya, la industrialización de esta, disminuye el contenido de Inhibidores de Tripsina ya que en pasta de soya cruda se encontrarán 34 mg I.T./gr y en pasta de soya sometida a una cocción de 121 °C, 90 min la concentración de este factor disminuye a 0.5 mg I.T./grs (38). Lo cual coincide con el comportamiento que se encontró para parota en el presente trabajo.

Por lo que respecta a Guaje (Leucaena leucocephala) las semillas sin tratar y aquellas tratadas son estadísticamente similares con valores de 15.4 a 29.73 U.I.T./mg, sin embargo se observó una ligera disminución por efecto de los 2 primeros tratamientos, confirmando que el calor afecta a este factor. En otras especies del genero Leucaena se han reportado concentraciones de 18.79 - 24.86 TUI/mg (31).

En cuanto al fruto se observa que aquellos sin tratar presentan las concentraciones mayores: en Mezquite fué de 47.25, Guaje 39.21 y Parota con 58.51 U.I.T./mg los demas valores son diferentes (excepto para guaje) y los diversos tratamientos hacen disminuir este factor.

En el Instituto Nacional de la Nutrición en el Departamento de Producción Animal se realizó una tesis en donde se hace una comparación de tratamientos termicos (20, 25 y 30 min/16 lb) sobre la harina de parota, obteniendo como resultado 17575, 12698, y 7640 U.I.T./gr. El mejor tratamiento termico fué el último ya que disminuye la concentración de este factor hasta en un 50% (39). En la Harina de parota cruda y cocida se observó una diferencia considerable del 65% ya que los valores fueron de 22500 a 7640 U.I.T./gr (39).

Cuando la harina de Parota se somete a diferentes tiempos de calentamiento (5 a 60 minutos) la actividad Inhibidora tripsica disminuye de 8.2 a 2.5 I.T. mg/g (37).

También se ha encontrado un efecto de la cocción adicional de la harina de soya, entre mayor es el tiempo de cocción (0, 5, 1025 min) menor es la actividad inhibidora de

tripsina (12.12, 7.84, 1.770 I.T mg/g) (37).

En el presente trabajo se encontró que los tratamientos termicos son favorables porque disminuyen hasta en un 74.53 % la concentración de inhibidores de tripsina (parota).

Los valores tanto para Mezquite y parota del presente trabajo difieren a los reportados en la literatura, sin embargo existen evidencias de dichas concentración varian segun la especie y la muestra, por ejemplo en diversas investigaciones sobre leguminosas los valores publicados fueron: para Acacia farnesiana, A. pennatula y A. cornigera 24.53, 11.30 y 6.15 TUI/mg estos autores en otro trabajo reportan para Acacia coellicantha un valor de 29.33 y en las variedades de Guaje morado (Leucaena pulverulenta) 24.86 y Guaje Verde (Leucaena macrocarpa) 18.79 TUI/mg (30, 31).

Los Inhibidores de Proteasas se conocen desde hace 40 años suelen presentarse principalmente en las leguminosas, son de gran importancia ya que las plantas que las contienen poseen un valor nutritivo dependiente de su actividad, como la soya y el frijol (34).

En la soya, leguminosa ampliamente utilizada en la alimentación humana y animal y por lo tanto de las especies mejor caracterizada, se conocen 5 o 6 inhibidores de proteasas, entre ellos el factor Kuntz 21000 PM (Peso molecular) y el factor Bowman - Burk 20000 PM (Peso molecular) los cuales inhiben a un grupo de proteasas como la tripsina. los inhibidores de proteasas se encuentran principalmente en las semillas (19), hallazgo que coinciden con los valores

encontrados en este trabajo para parota y mezquite.

Estudios recientes demuestran que los inhibidores de proteasas tambien son proteinas de bajo peso molecular como en el Amaranthus hypochondriacus (10 KDa) y con capacidad de abatir las enzimas de insectos, parasitos del maiz y del frijol (5)

En lo que corresponde al contenido de glucosidos cianogenicos, en Mezquite las semillas sin tratar tienen un valor de 0.357 ug de CN los demas tratamientos son estadisticamente semejantes con una ligera diferencia en el tratamiento No 3 cuyo valor fue de 1.12 ug de CN. Para Guaje los resultados que se obtienen varian considerablemente se observa que el tratamiento con cocci3n simple inhibe la presencia de este factor ya que tuvo un valor minimo de 0.308 ug de CN, comportamiento que coincide con la literatura (8,13).

Por lo que respecta a Parota los resultados varian en los cuatro grupos, el tratamiento que tuvo mayor efectividad fue el de 3 h cocci3n simple donde el factor disminuy3 considerablemente (0.489 ug de CN). En el Instituto Nacional de la Nutrici3n realizaron un trabajo de aplicaci3n de 16 lbs a tiempos de 20, 25 y 30 minutos en semillas de parota y se encontr3 que disminuye este factor antinutricional, ya que la valoraci3n cuantitativa result3 negativa (39).

En otro trabajo tanto la harina de parota cruda y cocida resultaron negativas a este factor. Al analizar otros trabajos en glucosidos cianogenicos se obtuvo, en determinaci3n cuantitativa, el valor de 0.76 ug de HCN/100 g de muestra que

representa 38 ppm (tecnica espectofotometrica a 520 nm) (32,33).

Al analizar al fruto sin tratar de Mezquite y Parota tuvieron los valores más altos de 1.56 ug de CN y de 2.58 ug de CN, en cuanto al Guaje su valor es muy bajo de 0.823 ug de CN.

En la actualidad se citan mas de 800 a 1000 especies, 250 generos y 70 a 80 familias de plantas con habilidad de liberar ácido cianhidrico (cianofóricos), incluyendo las leguminosas, algunas de las cuales tienen cantidades peligrosas de este elemento, sin embargo, los generos Prosopis, Leucaena y Enterolobium, segun algunos autores, no forman parte de este grupo. Sin embargo no se mencionan cantidades o concentraciones en estas plantas (2), por lo que resulta interesante contar con valores de estas especies.

Se conoce la estructura de muy pocos glucosidos cianogenicos, debido a la dificultad de aislarlos y purificarlos (34), probablemente a esto se deba la poca información existente sobre los generos Prosopis, Leucaena y Enterolobium.

Algunos autores señala la presencia de diversos glucosidos cianogenicos no caracterizados en leguminosas conocidas como: Leucaena leucocephala y Prosopis juliflora. El contenido de cianhidro en leguminosas puede variar por condiciones como el clima, temporada, cantidad de precipitación, fertilización y etapa o estado de crecimiento (34).

El ácido cianhidrico o prusico (CNH) es un liquido incoloro, muy volatil con olor a almendras amargas y muy

difusible, lo contiene el mijo, sorgo, avas, etc. La toxicidad de Acido cianhidrico puro es de 1 a 2 mg/Kg para todos los animales (19).

La cianogénesis es la habilidad de las plantas para sintetizar glucosidos cianogenicos con liberación de acido cianhidrico (HCN) por hidrolisis. Los ruminantes son más susceptibles que los monogastricos, debido a la actividad microbiana en el rumen. En borregos 2 - 4 mg/Kg (peso corporal) es la dosis minima letal (34).

Diversas leguminosas incluyendo Phaseolus lunatus L contienen mas de 20 mg HCN/100g, lo cual es considerado como toxico a la ganaderia (34).

Al analizar el contenido de Alcaloides Totales en semillas sin tratar se observa que Mezquite tuvo una minima presencia de Alcaloides su valor fue de 3.30%, en Guaje se encontró una concentración de 16.08% por ultimo la Parota obtuvo un valor muy alto de 36.29%, en los tratamientos se observa disminución de este factor excepto en Mezquite. En el Instituto Nacional de la Nutrición en el Departamento de Nutrición Animal se sometio la harina de parota a diversos tratamientos (20, 25 y 30 min /16 lbs de presión) en los 2 primeros tratamientos la presencia de Alcaloides resultó positiva y en cuanto al tratamiento que se empleo y fue el optimo de 30 min/16lbs de presión resultó negativo la determinación cualitativa de Alcaloides (39).

En otro trabajo en donde se utilizo el fruto de Harina cruda y cocida, en la primera hay presencia de este factor y en

la cocida no existe (32).

En los frutos de estas leguminosas Mezquite sin tratar presenta el porcentaje mayor de 49.893, en Guaje el fruto sin tratar tiene un valor de 17.518 y el fruto de Parota tuvo un valor 26.91%. Cuando se sometieron a los diversos tratamientos se encontró una eficacia en cuanto a la disminución de este factor, en las tres leguminosas (20).

En los follajes de estas 3 leguminosas (Mezquite, Parota y Guaje) se encontrarón valores diferentes: para Inhibidores de Tripsina en Parota su valor fue de 31.85, para Guaje y Mezquite son menores (17.07 y 11.09 U.I.T./mg): para alcaloides fueron, Mezquite de 21.3, Parota 2.6 y un valor mínimo para Guaje de 1.2 %. Generalmente cualquier porción del vegetal que se ingiere resulta toxica, ya que los alcaloides se distribuyen por todo el vegetal (2), en el presente trabajo se encontrarón concentraciones de este factor en los diversos elementos vegetales (follaje, fruto y semilla). Algunos alcaloides (Pirrolizidina, del genero Senecio y Quinolizidina, del genero Lupinus) son altamente hepatotoxicas (4,35).

En diversas especies de otros vegetales se han encontrado concentraciones mayores de alcaloides que las observadas en este estudio, por ejemplo en diversos Senecios se reportan valores de 19 a 87 ó 99% de alcaloides totales en el follaje de estas especies (35). Mientras que en base seca se presentán valores de 0.47 a 2 % tanto para Senecio, Lupinus (4,28).

Para hemoaglutininas se encontró que tanto en el fruto y semillas de estas 3 leguminosas los tratamientos son eficaces y

dan mayor resultado cuando se someten a presión y presión mas hidroxido de Calcio.

En follaje de Mezquite y Parota, en fruto y semilla de estas leguminosas y en cualquier de los tratamientos la presencia de hemoaglutinación es de escasa a nula. Para Guaje tanto en follaje, como semilla y fruto con y sin tratamientos presentaron una hemoaglutinación de escasa a moderada. En otros trabajos se realizó una comparación de 3 tratamientos termicos (20,25 y 30 min/16 lbs) no se encontró actividad de hemoaglutinación en la harina de parota tratada cruda y/o cocida (39).

En otro trabajo en el que se sometieron semillas de parota a una determinación semicuantitativa de Hemoaglutininas resultó negativa, no se encontró presencia de aglutinación (32).

F. Giral y col realizaron trabajos en diversas especies de leguminosas para caracterizarlas bioquímicamente encontrando que solo 2 especies del genero Muccana y Cassia presentaron actividad de hemoaglutinación en sangre de conejo, la especie del genero Swartzia presentó hemolisis en la sangre de vaca, conejo y en la del humano (30,31) y Leucaena y Enterolobium no presentaron actividad hemoaglutinante. En el presente trabajo se utilizaron eritrocitos activados de ovino, encontrando reaccion positiva en algunas de las muestras.

Las hemoaglutininas, fitohemoaglutininas, lectinas o fitotoxinas son sustancias extraidas de algunas plantas que tienen la propiedad de aglutinar los hematies, se suelen encontrar en las semillas principalmente y pueden ser extraidos

por agua o solución salina. Para su identificación se utiliza sangre de conejo o variantes, prueba de toxicidad parenteral o pruebas de edema subcutánea (19). En este estudio se utilizó extracción con solución salina 1% y sangre de ovino activada con tripsina.

Se conocen una 500 especies vegetales que contienen lectinas, se concentra en las partes vegetales donde se acumulan las reservas nutritivas (19), en el presente trabajo las semillas y frutos de guaje y en menor proporción las de mezquite y parota tuvieron actividad moderada de hemoaglutinación. Las lectinas tóxicas se encuentran en un gran número de plantas comunes como Phaseolus vulgaris, Pisum, Glycine max (soya) y Phaseolus lunatus (2,34).

Como son termolábiles, esta característica se aprovecha para detoxicar los vegetales que se deseen emplear en la alimentación del ganado por medio de autoclave en presencia de sosa al 2 % o calor seco a 205 °C o cocción con sosa al 2% y formadehído al 10 % (19), en el presente trabajo se utilizó la cocción simple y a presión con resultados satisfactorios.

Las fitohemoaglutininas son comunes en leguminosas, en general las lectinas combinadas con las células de la pared intestinal causan una interferencia no específica en la absorción de nutrientes, son letales en la ganadería y para animales experimentales (34,37).

En el presente trabajo se observó una interacción de diversos factores antinutritivos con la presencia de hidróxido

de calcio más presión, ya que aparentemente aumenta la concentración de dichos factores, probablemente debido a una fijación del elemento antinutritivo con el hidroxido de calcio y una deficiente eliminación del sobrenadante en el momento de realizar el tratamiento.

Para la eliminación de factores antinutritivos se han utilizado diversos metodos como: remojo, lavado prolongado, cocción simple o desengrasado con hexano o con mezcla de etanol agua o bien con presión y presión más compuestos quimicos y tratamientos microbianos (1,3,4,8 y 20).

Resulta evidente que existe poca información de los diversos factores antinutritivos o toxicos presentes en las especies de la Familia Leguminosae, ya que los datos existentes se refieren al grupo como tal, sin embargo resulta significativo la particularidad de especie. Algunos de los datos mas importantes para las leguminosa del presente estudio (Leucaena, Prosopis y Enterolobium) son:

El principio toxico del mezquite (Prosopis juliflora) no ha sido determinado con exactitud, aunque se sabe que ingerido como unica fuente de forraje causa muerte a largo plazo (15).

Para diversas especies de Leucaena, ejem L. glauca, solo se menciona como factor toxico la presencia de mimosina (alfa-aminoacido), que diversos estudios demuestran una ligera disminución cuando se someten a tratamientos termico-quimicos (1,14,15,23), sin embargo es evidente la presencia e importancia de otros factores toxicos como los analizados en este trabajo.

CONCLUSIONES

- 1.- En fruto y semilla sin tratar los diversos factores antinutritivos presentan los valores más altos
- 2.- En semilla y fruto de mezquite y Parota los tratamientos termicos reducen el contenido de inhibidores de tripsina
- 3.- En fruto y semilla de Guaje no se observa una reducción por efecto de los tratamientos.
- 4.- En terminos generales para glucosidos cianogenicos el tratamiento No 2 (3 h cocción) es el más efectivo.
- 5.- La concentración de Alcaloides totales se reduce por efecto de los tratamientos en mezquite y guaje, un efecto menos evidente se encontró en parota.
- 6.- Solo las muestras de guaje presentaron una actividad moderada de hemoaglutinación.
- 7.- De los tres tratamientos analizados solo uno (1 h 15 lb + Ca (OH)₂) no presentó los efectos deseados.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Adeneye A J. Mimosine content in various fractions of Leucaena leucocephala grown in western Nigeria. Animal Feed Science Technology 33: 349 - 353 (1991).
- 2.- Alfonso A.H.: Algunas consideraciones sobre plantas toxicas para los animales domesticos (Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria). (CENSA) San Jose de las Lajas. La Habana. 1988.
pag,26
- 3.- Anderson W. M. D.:Gum exudates from the genus Prosopis The International Tree Crops Journal 2 : 15 - 24 (1982).
- 4.- Camacho L.: Nutritional quality of lupine (Lupinus albus au multulupa) as affected by lactic acid fermentation Int. J.Food. Microbial 14 (3 - 4): 277 - 286 (1991).
- 5.- Chagolla A.: Purificacion y Caracterización de los inhibidores enzimaticas presentes en semillas de amaranto (Amaranthus hypochondriacus).XVIII Congreso Nacional Sociedad Mexicana Bioquimica AC. San Luis Potosi :122 (1990).
- 6.- Chavez A.J.L.: Potencial economico de especies vegetales de zonas aridas. Ciencia y Desarrollo No 55,pags.94-106. (1984).

- 7.- Chavez A.: Mexico Hoy, Nutricion problemas y alternativas. Siglo XXI Mexico.(1983).pags 220 - 229.
- 8.- Contreras S.: Factores toxicos de leguminosas cultivadas en Chile. Arch Latinoamer Nutr 23 :251 - 259 (1973).
- 9.- Curso Sobre Tecnicas especiales de Nutrición, Ciencias Quimicas, UNAM, 1988/1989.Pags 35 - 42.
- 10.- Dreisbach H.R., Robetson O.W.: Manual de toxicologia clinica, prevencion diagnostico y tratamiento. 6a edicion.Mexico Manual moderno (1988).Pag 234.
- 11.- Del Valle.:Utilización de la Vaina del Mezquite (Prosopis spp) en productos para la alimentación humana. Tec Aliment (Mex) : 22 (5); 5 - 10 (1984).
- 12.- Estrada F.E. Leguminosas silvestres de valor alimenticos Boletín informativo U.de G. Guadalajara, Jalisco.(1986).
- 13.- Enriquez V.F.,Avila G.E. Efectos de tratamiento termico y ferrico sobre la toxicidad de (leucaena leucocephala) en dietas para pollos de engorda,Instituto Nacional de Invest.Forestales y Agropecuarias. Memorias de la Reunion de investigacion Pecuaría en Mexico. (1986). SARH.Pags. 252.

- 14.- Guillen J. L.: Evaluación de la leucaena (Leucaena leucocephala) como sustituto proteico de la harina de semilla de algodón, en la alimentación de bovinos lecheros. Agroforesteria, Oct.(1989) No 4. Pags 13 - 18.
- 15.- Gonzalez.S.A.: Plantas toxicas para el ganado.Ed.Limusa Mexico 1989. Pags 25 - 26.
- 16.- Huerta.M.:La parota Enterolobium Cyclocarpum (Jacq). Griseb.Como un recurso forestal de las Zonas calido humedas en Jalisco;Tesis de Lic.Facultad de Agronomia;Guadalajara Jal, 1983. Pags 3 - 30.
- 17.- Hurtado .:Rendimiento y Calidad nutritiva de leucaena (leucaena leucocephala) a diferentes alturas de corte en el Oriente de Yucatan.Memorias del Congreso de Buiatria,Acapulco,Guerrero.(1984).Pags 128 - 132.
- 18.- Inventario Nal. Forestal. Subdireccion Forestal S.A.R.H. (1970).Pag. 256.
- 19.- Jurado C.R.: Toxicologia Veterinaria, 2da Edicion Editorial Salvat,Barcelona.1989.Pags 23 - 25.
- 20.- Liener E I. Toxic Factor in Edible legumes and their elimination. American Journal of Clinical Nutrition 11: pag.281 - 298.(1962).

21.- Mejia. U.R. Enterolubium cyclocarpum como ingrediente para pollos de engorda y la posible accion de pigmentacion Tesis de licenciatura, Escuela de Agricultura,Guadalajara Jal. 1984.Pags 39 - 40.

22.- Maud.M.R. Foroughbakhach P.Potencial forrajero de tres especies de de Leucaena en el noroeste de Mexico:respuesta a diferentes espaciamento, Reporte Cientifico, Num.12, Linares, Nuevo Leon, Mexico. (1989).Pag. 4.

23.- Martinez H H A. Efecto del espaciamento en el crecimiento y produccion de Leucaena Leucocephala, en San Pedro Sula, Honduras, Silvoenergia 31:(1989).

24.- Martinez M.: Plantas Utiles de la Flora Mexicana.
Ed, Botas (1959).México Pags. 180 - 184.

25.- Martinez P.M. Tico R.L.: Agricultura Practica,
Ed. Ramon Sopena. México. Pags 299 - 303.

26.- Niembro R.A.: Arboles y Arbustos Utiles en Mexico, Ed. Limusa, Departamentos de bosques, Universidad Autonoma Chapingo (1986).Pag. 152 - 153.

27.- Official Methods of analisis, Sidney Willians, fourteenth editium: 62-63 (1984).Published Association of official Analytical. Chemistis Inc. Arlington Virginia.Pags 62-63.

- 28.- Rivera F. M. C. Alteraciones histopatológicas en estomago, yeyuno, higado y riñones de ratas por la administracion oral del extracto metanolico de Senecio guadalajarensis. Tesis Lic. Ciencias Biologicas U de G. (1990).Pag. 12.
- 29.- Sotero.A. Leguminosas silvestres; reserva de proteinas para la alimentacion del futuro. Inf, Cient. y Tec. 3,28,32.
- 30.- Sotelo. B. Giral F. Chemical Composition and toxic factors content in fifteen Leguminous seeds.Quart. J. Crude Drug Res 16(3):143 - 149 (1978).
- 31.- Sotelo..A.,.: Chemical Composition and toxic factors content of sixteen leguminous seeds.(II).Quart J.Crude Drug Res 18 (1): 9 - 16 (1980).
- 32.- Serratos.A.J.C.: Utilizacion de Semillas de Parota (Enterolobium cyclocarpum) para la alimentacon humana. Tesis de Maestria,Esc. Graduados U de G.(1989).
- 33.- Serratos A.J.C. Principales factores antinutricionales y biodisponibilidad de las semillas de Parota y (Enterolobium cyclocarpum). Primer Congreso Nacional de Investigaciones de Educacion Tecnologica Agropecuaria y Ciencias del Mar.(1990). pag.74.

- 34.- Stanislaus J.: Toxic Constituents of legume forage Plants. Economic Botany 35 (3) 1981 pp.321 - 355 1981
- 35.- Toppel G.: Alkaloid patterns and biosynthetic capacity of root cultures from some pyrrolizidine alkaloid producing *Senecio* species. *Plant Cell Reports*. 6:466 - 469 (1987).
- 36.-Tejada, .de, M.I.: Control de Calidad y Analisis de Alimentos para Animales. Sistema de Educación Continua en Producción Animal A.C. Mexico (1992). Pags.88 - 89, 366 - 367.
- 37.- Vonhra Pran, F.H. Kratzer. Evaluation of soybean meal determines adequacy of heat treatment. Feedstuffs. February 25 (1991) pag. 22 - 27.
- 38.- Wilson P. R. col.: Resultados obtenidos en la alimentación de pececillos de bagre de Canal al utilizar pasta de soya con diferentes actividades inhibitoras que afectan su crecimiento. *ASA/MEXICO AN N. 45: 1 - 5 (1986)*.
- 39.- Zerín. S.: Diagrama de flujo del acondicionamiento y tratamiento termico a la parota. Instituto Nacional de la Nutrición, Departamento de Producción Animal. Tesis de Lic.Q.F.B. Universidad de Motolinía (1981).