

TRATAMIENTO TECNOLÓGICO DE LOS GRANOS DE LEGUMINOSAS: INFLUENCIA SOBRE SU VALOR NUTRITIVO

A. Brenes y J. Brenes
CSIC y LUCTA, S.A.

1. INTRODUCCIÓN

El valor nutritivo de algunos alimentos, como los granos de ciertas leguminosas, es mucho menor del que se podría esperar en relación con su composición química. La presencia de factores antinutritivos (factores antitripsicos, lectinas, taninos, etc) reducen la disponibilidad biológica y la digestibilidad de uno o más nutrientes. Muchos de estos factores antimetabólicos pueden ser inactivados mediante una adecuada aplicación de diversos tratamientos tecnológicos.

Se han desarrollado en la industria de la alimentación animal varios métodos de procesado (molienda, granulación, extrusión, expansión, etc) para mejorar el valor nutritivo de una amplia variedad de alimentos o materias primas. Los tratamientos potenciales son numerosos y su elección está en función del sustrato, de su morfología y textura, de su composición y de la localización de los componentes, así como de la sensibilidad de éstos a los diferentes factores fisico-químicos que pueden desencadenarse. De todos los tratamientos tecnológicos, el calor, solo o en combinación con otras técnicas, es uno de los métodos más comunes y efectivos que pueden ser utilizados. Su utilización en forma mecánica, hidrotérmica y térmica en las distintas materias primas utilizadas en alimentación animal y, en particular, en el caso que nos concierne de las semillas de las leguminosas, se debe a varias razones: por alterar la forma física del alimento; eliminar, inactivar o reducir los factores antinutritivos (FAN) presentes en ellas y, por ende, contribuir a incrementar la biodisponibilidad de ciertos principios nutritivos que forman parte de su composición química.

La mayoría de los estudios que se han llevado a cabo muestran los efectos positivos causados por el procesado de las semillas. Sin embargo, es necesario conocer con más precisión el grado en que estas modificaciones pueden afectar negativamente el valor nutritivo de éstas, y crear métodos apropiados para conocer con exactitud la proyección real de los tratamientos tecnológicos.

2. COMPOSICION QUIMICA Y FACTORES ANTINUTRITIVOS DE LAS LEGUMINOSAS GRANO

En general, las semillas de las leguminosas, desde un punto de vista muy amplio, se pueden dividir en dos tipos: unas, cuya energía es almacenada en forma de lípidos (soja, altramuз), y otras, en las que esta energía se deposita en forma de almidón (habas, guisantes, lentejas, garbanzos, etc.).

Dentro de la gran variedad de leguminosas existentes, las que han despertado mayor interés y su producción ha aumentado espectacularmente son el guisante y, en menor medida, las habas y el altramuз. Por otra parte, las judías también han sido estudiadas pero desde un punto de vista tóxico, ya que contienen numerosos factores antinutritivos. Por diversas razones, el estudio de otras leguminosas grano como garbanzos, lentejas, vezas y yeros como fuente de proteína en alimentación animal ha sido muy limitado. Por ello, el presente estudio se centrará en la utilización de los guisantes, habas y altramuзes, citándose alguna referencia a las judías, ya que en estos momentos pueden representar una alternativa o un complemento a la torta de soja, por la amplia información que se dispone sobre su valor nutritivo y por el conocimiento que se tiene de los problemas asociados con su utilización. De forma sucinta, se hará una revisión de la composición química y de los principales factores antinutritivos presentes en estas leguminosas, para así poder entender con más claridad el efecto de los tratamientos tecnológicos.

2.1. Composición química

a) Proteína y aminoácidos

En general, las leguminosas grano son consideradas principalmente como fuentes de proteína, razón por lo que existe una gran abundancia de datos sobre su composición que se encuentran resumidos en el cuadro 1. La riqueza en proteína de estas semillas es bastante variable entre y dentro de los mismos genotipos (Wiseman y Cole, 1988; Gatel, 1992).

La cantidad de aminoácidos esenciales se describe en el cuadro 2. Si se compara con la proteína de la soja, la de las leguminosas es rica en lisina, contiene una proporción similar de treonina, pero por el contrario posee una menor riqueza en aminoácidos azufrados y en triptófano (INRA, 1989). En general, el porcentaje de cada aminoácido está altamente correlacionado con la proporción de proteína, y esta relación parece ser independiente del genotipo, factores ambientales o prácticas agrícolas (Mosse et al., 1987, 1990). Como consecuencia de esta relación lineal entre el porcentaje de aminoácidos y de proteína, los aminoácidos no se encuentran en proporción fija de la proteína total sino que varían en función hiperbólica de ésta. Cuando el contenido de proteína disminuye la proporción de algunos aminoácidos aumenta, especialmente en el caso de la lisina, los aminoácidos azufrados, el triptófano y la treonina; en otras palabras, cualquier incremento en el contenido de proteína de las leguminosas lleva consigo una disminución de la calidad de ésta referida al perfil de sus aminoácidos.

Cuadro 1. Concentración de proteína de habas, guisantes, altramuces y judías (Wiseman y Cole 1988; Gatel y Grosjean 1990)

| Ingredientes | Proteína (g kg ⁻¹ MS) |
|------------------|----------------------------------|
| Habas | |
| Primavera | 21,9 - 26,9 |
| Invierno | 23,0 - 31,9 |
| Descascarillados | 31,7 - 32,4 |
| Guisantes | |
| Primavera | 18,1 - 31,1 |
| Invierno | 24,0 - 30,9 |
| Descascarillados | 23,7 - 30,9 |
| Altramuces | |
| Semilla entera | 30,0 - 40,4 |
| Descascarillados | 37,1 - 48,9 |
| Judías | |
| Semilla entera | 20,0 - 27,0 |

Cuadro 2. Composición en aminoácidos (g kg⁻¹ MS) en distintas leguminosas grano (Gatel, 1992)

| Nutrientes | Habas | Guisantes | Altramuces |
|---------------|-------|-----------|------------|
| Proteína (%) | 30,3 | 25,6 | 41,0 |
| Lisina | 19,1 | 18,6 | 19,3 |
| Met. + Cis. | 6.1 | 6.9 | 9.2 |
| Triptófano | 2.5 | 2.3 | 3.2 |
| Treonina | 10.7 | 10.1 | 14.8 |
| Leucina | 22.4 | 17.8 | 28.9 |
| Isoleucina | 13.6 | 11.3 | 18.0 |
| Valina | 14.4 | 11.7 | 17.2 |
| Histidina | 7.6 | 6.0 | 9.4 |
| Arginina | 28.5 | 24.7 | 43.1 |
| Fenil. + Tir. | 23.2 | 20.1 | 34.5 |

b) Carbohidratos

Los hidratos de carbono son una fracción nutritiva importante en las leguminosas grano, ya que, según su digestibilidad, constituyen una fuente de energía en las raciones.

En general, esta fracción representa aproximadamente el 70% de la materia seca de estas leguminosas, abarcando el almidón, los constituyentes de las paredes celulares y los alfa-galactósidos. Las concentraciones de almidón que normalmente se encuentran en las leguminosas grano estudiadas se recogen en el cuadro 3 (Pritchard et al., 1973; Cerning-Beroard y Filiatre, 1976). Según estos datos, se observa una gran variabilidad tanto

entre las distintas variedades como dentro de ellas, siendo por regla general la concentración de almidón de las variedades lisas (guisante) más alta que la de las variedades rugosas. Asimismo, las variedades de primavera suelen poseer una riqueza menor con respecto a las de invierno. La composición del almidón, de igual forma, difiere entre las distintas variedades debido a que la concentración de amilosa es menor en los guisante lisos que en los rugosos. El porcentaje de almidón de las habas es del 35-40%. El altramuza, por el contrario, posee concentraciones prácticamente nulas de almidón.

Cuadro 3.- Porcentaje de almidón de las distintas leguminosas (Wiseman y Cole, (1988); Gatel y Grosjean, (1990); Carré y Brillouet, (1986))

| Ingredientes | Almidón (%) | Polisacáridos no amiláceos |
|--------------------|-------------|----------------------------|
| Habas | | |
| Primavera | 19,3 - 30,0 | |
| Invierno | 32,9 - 34,8 | 17,4 |
| Flores blancas | 41,2 | |
| Flores coloreadas | 41,3 | |
| Guisantes | | |
| Primavera | 50,0 | 13,1 |
| Invierno | 47,5 | |
| Variedades lisas | 47,9 | |
| Variedades rugosas | 32,9 | |
| Altramuces | < 10 | 30,9 |

En cuanto a la concentración de polisacáridos no amiláceos (PNA), los estudios de Carré y Brillouet (1986) han demostrado que los porcentajes de estos polisacáridos son del 17,4% para las habas, 13,1% para los guisantes y 30,9% para el altramuza (cuadro 3). Estos investigadores también han señalado en sus estudios que las paredes celulares de las leguminosas, al contrario que las de los cereales, poseen concentraciones significativas de sustancias pécticas.

Las leguminosas también son fuentes ricas en oligosacáridos, conocidos como alfa-galactósidos de sacarosa (Saini, 1989; Brenes et al., 1989). La concentración de estos azúcares viene recogida en el cuadro 4.

Cuadro 4. Porcentaje de oligosacáridos en las semillas de leguminosas (Saini, 1989)

| Ingredientes | Oligosacáridos (% MS) | | |
|-------------------------------|-----------------------|------------|------------|
| | Rafinosa | Estaquiosa | Verbascosa |
| Habas | 0,5 | 2,1 | 4,0 |
| Guisantes | 0,6 | 1,9 | 2,2 |
| Altramuces (<i>L.albus</i>) | 1,9 | 11,0 | 1,8 |
| Judías | 1,0 | 2,5 | 4,0 |

c) Lípidos

La importancia de esta fracción radica en su fuente potencial de energía y también en su contenido de ácidos grasos esenciales. De las tres leguminosas en estudio, los altramuces poseen una concentración significativa de lípidos (8,3 a 11,3%; Hill, 1977, y Green y Oram, 1983). Por otra parte, la concentración de lípidos en las semillas de habas es de 1,5-1,9%, y de 1,3-2,8% en los guisantes (Welch y Griffiths, 1984).

2.2. Factores antinutritivos

Es un hecho ampliamente reconocido que las leguminosas contienen una variedad de factores antinutritivos que inciden o interfieren en la disponibilidad de los nutrientes, causando un efecto negativo en el crecimiento de los animales. La concentración de estos factores es muy variable y sus efectos biológicos son distintos según la especie animal (Huisman et al., 1991), siendo los animales jóvenes más sensibles a ellos.

a) Taninos

Los taninos son un grupo de compuestos fenólicos (polifenoles) que poseen la capacidad de formar complejos con los nutrientes de la ración, primordialmente la proteína, haciéndolos resistentes a la acción de los enzimas digestivos (Griffiths, 1981). Pueden también, por sí mismos, inactivar estas enzimas (Longstaff y McNab, 1991). En el caso particular de las leguminosas grano, estos compuestos son predominantemente taninos o polifenoles condensados que se encuentran localizados en la cascarilla de las semillas.

Su concentración es muy variable, tal como refleja el cuadro 5, y generalmente está más relacionada con el color de las flores de estas leguminosas que con el de la semilla (Cabrera y Martin, 1986). Su efecto biológico más negativo en los monogástricos está relacionado con su capacidad para formar complejos con las proteínas.

Cuadro 5.- Porcentaje de taninos condensados en habas y guisantes (Wiseman y Cole, (1988)

| Ingredientes | Cascarilla | Cotiledón | Semilla entera |
|---------------------|-------------------|------------------|-----------------------|
| Habas | | | |
| Flores coloreadas | 4,20 | 0,08 | 0,59 |
| Flores blancas | 0,04 | 0,07 | 0,06 |
| Guisantes | | | |
| Flores coloreadas | 2,9-3,8 | 0,08 | 0,23-0,35 |
| Flores blancas | 0,03 | 0,08 | 0,06 |

Los taninos son generalmente bastante resistentes al calor. El descascarillado es el mejor proceso para eliminar estos factores ya que se encuentran presentes en la cascarilla. El remojo en soluciones acuosas y alcalinas solubiliza y modifica los taninos (Chavan et al., 1979). El almacenamiento anaerobio y la adición de productos químicos (polivinilpirrolidona

y polietilenglicol) pueden también reducir los efectos nocivos de estos factores antinutritivos (Mitaru et al., 1984; Salunkhe et al., 1990).

b) Lectinas

Son glicoproteínas capaces de unirse a azúcares específicos y a otras glicoproteínas. La mayoría de las lectinas son resistentes a la hidrólisis causada por los enzimas digestivos proteolíticos, y son eliminadas con las heces (Jaffe, 1980; Nakata y Kimura, 1985). Debido a esta resistencia, las lectinas permanecen activas en el intestino y son capaces de unirse a los receptores localizados en la superficie del epitelio intestinal.

La mayoría de las investigaciones realizadas se han concentrado en las lectinas procedentes de las judías, debido primordialmente a que son altamente tóxicas para el hombre y los animales. Las actividades de lectinas o fitohemoaglutininas de judías, guisantes y otras leguminosas se encuentran recogidas en el cuadro 6. Según el test de hemoaglutinación, la actividad de las lectinas en la harina de soja es mucho más alta que en el guisante (1600-3200 vs 100-400 unidades/mg). De todas formas, existe una gran variabilidad entre cultivares de una misma especie y entre muestras de un mismo cultivar.

Al igual que los inhibidores de las proteasas, las lectinas son inactivadas por el tratamiento térmico dependiendo su inactivación de la temperatura alcanzada. Estudios en ratas y pollos han demostrado que estas glicoproteínas se unen fuertemente a las membranas de los enterocitos, pudiendo afectar el proceso de absorción de los nutrientes (Pusztai, 1989; Rubio et al., 1990). Por otra parte, se ha comprobado que las lectinas pueden competir con los microorganismos en los mismos lugares de la pared intestinal, produciendo un desequilibrio en la microflora intestinal y favoreciendo la formación de cepas bacterianas patógenas (Sissons, 1989). Las lectinas se caracterizan por su gran riqueza en cistina, y en su estructura se encuentran puentes disulfuros que las hace inatacables por las enzimas digestivas.

Cuadro 6. Actividad hemoaglutinante e inhibidora de la tripsina de distintas leguminosas grano (Gatel,1992)

| Ingredientes | Actividad hemoaglutinante (U/mg) | Inhibidor de la tripsina (UIT/mg) |
|---------------------|---|--|
| Habas | | |
| Primavera | 25-50 | 3,5-5,0 |
| Invierno | 50-100 | 3,5-5,4 |
| Guisantes | | |
| Primavera | 100-400 | 1,96-8,4 |
| Invierno | 200-400 | 7,90-12,50 |
| Altramuces | < 1 | - |

c) Inhibidores de las proteasas

Los inhibidores de las proteasas son proteínas con actividad específica antitripsínica y antiqumotripsínica (Griffiths, 1984). Aunque existe una gran variabilidad entre los distintos cultivares, el efecto general de estos inhibidores de las proteasas es el de reducir la digestibilidad de las proteínas e incrementar las secreciones digestivas del páncreas. Estos efectos se producen mediante la formación de un complejo estable (enzima-inhibidor) que transita a lo largo del tracto digestivo sin ser atacado, aumentando las pérdidas de material endógeno y causando la hipertrofia del páncreas (Leterme y Beckers, 1989).

Entre las diferentes semillas de leguminosas grano utilizadas en alimentación animal, los inhibidores de las proteasas se encuentran principalmente en las judías y los guisantes. En los guisantes se localizan primordialmente en los cotiledones, siendo su actividad aproximadamente trece veces más alta que en las cascarillas. En el cuadro 6 se recogen los valores de estas actividades en distintas semillas de leguminosas. En general, se observa que estas actividades son de cinco a veinte veces menores que en la soja sin tratar. Las variedades de guisantes de flores blancas de invierno poseen dos a tres veces más actividad que las variedades de primavera (Valdebouze y Gaborit, 1985; Leterme et al., 1990a). Los guisantes procedentes de flores coloreadas generalmente tienen actividades menores (Pisulewski et al., 1983; Grosjean et al., 1989). Con respecto a las habas, estas actividades son menos variables y son similares a las obtenidas con los guisantes de primavera, con muy poca diferencia entre cultivares de invierno y primavera (Valdebouze et al., 1980; Valdebouze y Gaborit, 1985). Por otra parte, las condiciones climáticas y edafológicas tienen también una influencia decisiva en las actividades de estos inhibidores (Bond y Smith, 1989; Leterme et al., 1990a).

d) Vicina y convicina

Son otros compuestos termoestables presentes exclusivamente en los cotiledones de las habas. Estudios realizados por Roblee et al. (1977) y Campbell et al. (1980) demostraron que, cuando la proporción de habas se incrementaba en la ración de ponedoras, el peso del huevo disminuía y las Unidades Haugh aumentaban. Estos compuestos también afectan la fragilidad de la yema y aumentan la incidencia de manchas de sangre, disminuyen la fertilidad e incubabilidad de los huevos, elevan la concentración de los lípidos plasmáticos y peróxidos e incrementan el grado de hemólisis de los eritrocitos (Marquardt, 1989). La vitamina E puede contrarrestar los efectos de la vicina y convicina. Estos compuestos, a su vez, pueden ser hidrolizados por la microflora intestinal (Frohlich y Marquardt, 1983) y producir compuestos altamente reactivos generadores de radicales libres, tales como la divicina y el isouramil. Las concentraciones de vicina y convicina varían entre las diferentes variedades de habas y su actividad puede ser reducida químicamente, siendo el coste de este tratamiento generalmente elevado.

e) Proteínas antigénicas

Estas proteínas, cuando son administradas a los animales, inducen la síntesis de anticuerpos específicos. Estas moléculas están presentes en la soja y los guisantes, pudiendo

actuar como antígenos, causando alteraciones en la pared intestinal y reacciones inmunológicas, debido a ciertos trastornos en la función intestinal de lechones y terneros (Sissons et al., 1982; Toullec y Guilloteau, 1989). En el caso particular de la soja, las globulinas y en particular la glicinina y la β -conglucina han sido implicadas en este fenómeno (Sissons, 1982). También producen reacciones alérgicas las globulinas de los guisantes, legumina y vicilina, y la faseolina de la judía (Do Prado et al., 1989; Bush et al., 1991; Begbie y Ross, 1993).

Estas proteínas son resistentes al tratamiento térmico, siendo necesario altas temperaturas para afectar su antigenicidad, aunque esto produce un efecto negativo sobre la calidad de la proteína (Anderson et al., 1979). Las vías más sencillas de inactivación son la extracción con etanol-agua que produce un material muy escaso en proteínas antigénicas (soja) (Sissons, 1982); no obstante, este tratamiento no evita totalmente la producción de antígenos en terneros aunque sí lo hace en lechones (Tolman, 1991). La hidrólisis de estas proteínas por medio de proteasas y ácidos da lugar también a productos aparentemente libres de proteínas antigénicas.

3. EFECTO DE LOS TRATAMIENTOS TECNOLOGICOS SOBRE LA ACTIVIDAD DE LOS FACTORES ANTINUTRITIVOS

En general, el valor nutritivo de las leguminosas grano, tal como se ha indicado anteriormente, es mucho menor de lo esperado si se tiene en cuenta su composición química. Por ello, para mejorar su calidad nutritiva y para facilitar una utilización efectiva de estas semillas, se hace necesario eliminar o reducir la actividad de estos factores antinutritivos (FAN) produciéndose así un aumento de la digestibilidad de la proteína y de la energía. La termolabilidad de algunos de estos factores antinutritivos antes citados, principalmente los inhibidores de las proteasas y las lectinas, justifica la utilización de su tratamiento térmico. Por otra parte, y debido a que la proteína y los carbohidratos presentes en estas leguminosas son menos digestibles que los de los cereales, la aplicación de diversos tratamientos tecnológicos es un medio justificado para mejorar su disponibilidad.

Se han realizado muchas investigaciones para definir las condiciones del procesado de estas semillas con el objeto de eliminar o reducir en gran manera la actividad de los factores antinutritivos. Estos procedimientos están basados en el tratamiento térmico y otros medios (cuadro 7). Por otra parte, la variabilidad existente en las concentraciones de los FAN y en su actividad justifica en gran medida la necesidad de evaluar diferentes procesos.

Se ha confirmado plenamente que el tratamiento térmico mejora el valor nutritivo de las proteínas vegetales. El mecanismo de acción de este fenómeno puede estar basado en que facilita el acceso de los enzimas digestivos a los nutrientes, especialmente a las proteínas. A su vez, la efectividad de estos tratamientos depende de una combinación de factores que se relacionan con la temperatura, el tiempo, el tamaño de la partícula del alimento, la humedad inicial y la cantidad de agua añadida durante el proceso de calentamiento (Van der Poel, 1989).

Cuadro 8. Efecto de distintos tratamientos tecnológicos sobre la reducción de la actividad inhibidora de la tripsina y las lectinas (Van der Poel, 1990)

| Tratamientos | Inactivación (%) | |
|---------------------------|------------------|--------|
| | AIT | AIH |
| Vapor (100°C >15 min) | 65-97 | 90-100 |
| Autoclave (121°C >15 min) | 85-100 | 99-100 |
| Tostado en seco | 54-82 | 85-99 |
| Extrusión | 78-98 | 93-98 |

El efecto del calor sobre los inhibidores de la tripsina se realiza al alterar la integridad de la estructura química sostenida por las uniones disulfuro que se destruyen bajo su acción (Burns, 1987). Por lo tanto, estos inhibidores pueden ser inactivados por diferentes procesos térmicos tales como la extrusión (Bertrand et al., 1982; Van Zulichem y Van der Poel, 1989; Grosjean y Gatel, 1989), la radiación infrarroja (Van Zulichem y Van der Poel, 1989), el micronizado (McNab y Wilson, 1974), el autoclave (Marquardt et al., 1974), el procesado al vapor (Van der Poel, 1990) o la granulación (Marlier et al., 1989).

La extensión o la intensidad con la que los inhibidores de las proteasas son destruidos o inactivados está en función de la temperatura, la duración del calentamiento, el tamaño de la partícula y la humedad (Griffiths, 1984; Saini, 1989) y, quizás, de la variedad. Los trabajos realizados por Van Zulichem y Van der Poel (1989) así lo demuestran cuando señalan que los inhibidores de la tripsina de la variedad "Finale" de guisantes son totalmente inactivados después del proceso de extrusión a 105°C, mientras que a una temperatura de 125°C no lo están los de la variedad de guisantes rugosos (figura 1).

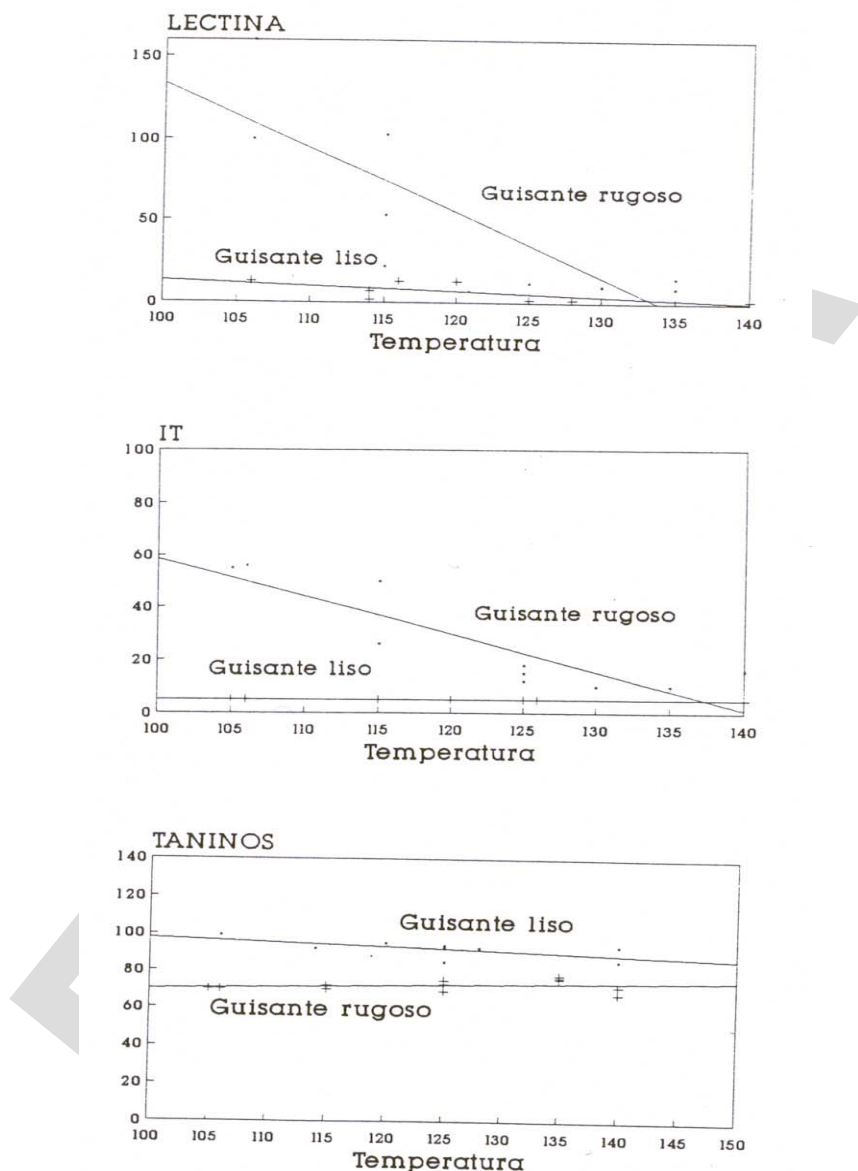
El potencial de la granulación como medio para reducir los inhibidores de las proteasas parece ser muy escaso (Carré et al., 1987; Grosjean et al., 1989). Así, en el experimento llevado a cabo por Grosjean et al., (1989), la granulación a 80°C de las raciones que contenían 30% de guisantes de primavera e invierno no modificó la actividad antitripsina de estas variedades. Esto podría ratificar los resultados de Griffiths (1984) que demostró que los inhibidores de la tripsina y quimotripsina eran estables a temperaturas por debajo de los 80°C.

El tratamiento térmico realizado en el autoclave ha demostrado ser un medio efectivo para disminuir los efectos nocivos de muchos factores antinutritivos de las semillas de leguminosas (Liener, 1986; Rubio et al., 1990). El autoclave de laboratorio, sin embargo, no es un método de procesamiento económico para ser utilizado en la elaboración de piensos para alimentación animal.

La extrusión ha sido utilizada con mucho éxito en la soja, sobre todo en la preparación de raciones para animales monogástricos (Pond y Maner, 1984). Pruebas de alimentación realizadas con pollos y cerdos han demostrado que el proceso de extrusión es tan efectivo como el tratamiento con autoclave cuando se utilizan habas (Myer et al., 1982; Myer y Froseth, 1983). Sin embargo, la extrusión puede ser más difícil de aplicar en las leguminosas

debido a su bajo contenido en lípidos, los cuales se comportan como lubricante en el caso particular de la soja, por lo que es necesario añadir agua o vapor a estas semillas antes de ser extrusionadas (Myer y Froseth, 1989).

Figura 1. Efecto de la temperatura sobre FAN (Van Zuilichen y Van der Poel, 1989)



Al igual que los inhibidores de las proteasas, las lectinas son inactivadas por el calor y son más sensibles a éste que aquéllos. Su efecto parece estar relacionado con la duración del calentamiento y el grado de temperatura, siendo el calor húmedo más efectivo que el seco. Sin embargo, la granulación no produce reducción en la actividad hemoaglutinante de las lectinas presentes en las habas (Marquardt et al., 1974, 1976; Van Zuilichen y Van der Poel, 1989).

Ciertos aspectos que relacionan la nutrición de los animales y los efectos de los factores antinutritivos han de tomarse en consideración para comprender mejor su mecanismo de acción y, al mismo tiempo, establecer diferencias entre diversas especies animales,

porcentajes mínimos necesarios de FAN que limitan su utilización, etc. Debido al alto coste y a las grandes cantidades de FAN necesarios para estudiar sus efectos antimetabólicos y la influencia de los tratamientos tecnológicos, muchos de estos estudios han sido realizados en animales pequeños de laboratorio como las ratas y las aves. Los parámetros estudiados así como los animales empleados hacen que los resultados obtenidos no se consideren válidos para todas las especies, debido a que el efecto antinutritivo tiene un distinto comportamiento en cada una de ellas. Se sabe que en las raciones para aves y cerdos adultos se permiten mayores proporciones de leguminosas que en las destinadas a los lechones (Huisman y Van der Poel, 1989). Esto indica que las concentraciones límites dependen de la edad y del peso vivo de los animales. No hay referencia bibliográfica que muestre los niveles máximos de tolerancia de estos factores antinutritivos en los animales. En experiencias recogidas por Huisman et al. (1992) se demuestra que 0,5 g de IT/kg de la ración pueden ser tolerados por los broilers, gallinas ponedoras y cerdos en cebo; sin embargo, para el caso particular de los lechones, esta concentración parece ser demasiado alta.

Con respecto a la concentración de taninos, los resultados de Jansman et al., (1989) indican que concentraciones de hasta 3 g/kg en la ración pueden ser tolerados por la aves; sin embargo, en el mismo estudio se demostró que estas mismas proporciones en lechones disminuían la digestibilidad aparente de la proteína. En el caso particular de las lectinas, se ha demostrado que su toxicidad varía dependiendo de la leguminosa utilizada, por lo que no está definida su concentración límite.

4. DIGESTIBILIDAD DE LA PROTEINA Y EFECTO DE LOS TRATAMIENTOS TECNOLOGICOS

Además de la inactivación de los FAN por los tratamientos térmicos, las propiedades fisico-químicas de las proteínas pueden sufrir cambios significativos debido a la desnaturalización producida por el calor. La mayoría de los distintos cultivares de las leguminosas grano contienen fracciones proteicas similares según la propiedad de solubilización de las proteínas. Las globulinas, que son las que poseen el mayor porcentaje de participación, están a su vez divididas en dos fracciones proteicas denominadas legumina y vicilina (guisantes y habas), y faseolina en el caso de las judías.

La resistencia de estas proteínas a la proteólisis de los enzimas digestivos es un factor importante que contribuye a la disminución de su valor nutritivo cuando no son tratadas por el calor (Romero y Ryan, 1978). En el caso particular de la faseolina, donde se han realizado más estudios, se ha observado que cuando esta proteína es calentada es más susceptible a la degradación (Desphande y Nielsen, 1987) que la no tratada, siendo esta última muy resistente a la hidrólisis completa por tripsina, quimotripsina y pepsina (Bradbear y Boulter, 1984; Desphande y Nielsen, 1987). Esta inaccesibilidad de las enzimas a esta proteína se debe primordialmente a sus propiedades estructurales y, en particular, a su estructura compacta (Romero y Ryan, 1978). Cuando se han hecho estudios comparativos entre diversas proteínas de leguminosas se ha observado que la faseolina es la más resistente a la digestión, seguida por la glicinina y β -conglucina de la soja, siendo la vicilina (guisante) la más susceptible (Nielsen et al., 1988; Ivanko et al., 1991).

La aplicación de los tratamientos térmicos a las leguminosas tiene un efecto muy directo sobre su digestibilidad nutritiva y esto, a su vez, influye marcadamente en el crecimiento de los animales. Por lo tanto, la determinación de la actividad de los FAN no puede ser tomada como único indicador de la eficacia del tratamiento térmico cuando éste se relaciona con el valor nutritivo. Los datos recogidos por King et al. (1983), Myer y Froseth (1983), Rodriguez y Bayley (1987) y Van der Poel (1990), reflejan la necesidad de una mayor información en relación con la contribución relativa de cada uno de los FAN y el efecto del tratamiento térmico sobre la digestibilidad ileal de los nutrientes, especialmente proteína, en distintas especies.

Muy pocos autores han llevado a cabo la determinación de la digestibilidad de la proteína y de los aminoácidos en las semillas de leguminosas. Tomando como referencia las tablas de alimentación de Rhone Poulenc (1989), donde se recogen datos de digestibilidad ileal de proteína y aminoácidos, se comprueba que los guisantes y las habas poseen una alta digestibilidad de lisina y treonina, y una baja digestibilidad de la proteína y de los aminoácidos azufrados, especialmente en el caso de los cerdos en relación con las aves. Se comprueba también que la mayoría de las referencias utiliza un número limitado de variedades, existiendo a su vez diferencias debido a la metodología utilizada para su determinación. Sin embargo, en los últimos 20 años un número significativo de muestras y variedades de guisantes y habas han sido estudiadas por los investigadores franceses del INRA, primordialmente en cerdos y aves, utilizando una metodología similar. Todos estos datos han sido recogidos por Pérez y Bourdon (1992) para guisantes, y Bourdon y Pérez (1992) para las habas (cuadro 9).

Cuadro 9. Digestibilidades aparentes de nitrógeno, energía y valores de ED de guisantes y habas en cerdos (Perez y Bourdon, 1992; Bourdon y Perez, 1992)

| | Digestibilidad aparente | | ED (Mcal kg ⁻¹) |
|-------------------------|-------------------------|---------|-----------------------------|
| | Proteína | Energía | |
| Guisante flor coloreada | 75,4 | 81,6 | 3,62 |
| Guisante flor blanca | | | |
| invierno | 81,9 | 86,6 | 3,84 |
| primavera | 86,2 | 88,7 | 3,93 |
| Haba flor coloreada | | | |
| invierno | 80,8 | 84,7 | 3,78 |
| primavera | 83,4 | 84,6 | 3,78 |
| Haba flor blanca | | | |
| sin taninos | 82,5 | 83,7 | 3,74 |
| Haba decorticada | 87,6 | 91,4 | 4,07 |

La digestibilidad fecal aparente de la proteína de los guisantes en cerdos parece ser altamente variable, siendo menor en los guisantes de flores coloreadas que en los de flores blancas. En lo que se refiere a estos últimos, el porcentaje medio de digestibilidad de la proteína es mayor para las variedades de primavera que para las de invierno (Leterme et al., 1990; Heinz et al., 1991; Jondreville et al., 1992). En muchos estudios (Leterme et al., 1990; Heinz et al., 1991; Jondreville et al., 1992), en los que se comparaban diversas variedades de

guisantes con diferentes concentraciones de inhibidores de las proteasas (IT) y otras características agronómicas y botánicas, se estableció una relación entre la digestibilidad de la proteína y los inhibidores de la proteasa. Sin embargo Gdala et al., (1991), utilizando variedades de flores blancas y coloreadas cuyos IT estaban en un rango entre 0,77 y 15,94 UIT/mg, observaron una amplia variación en la digestibilidad ileal del nitrógeno y de los aminoácidos.

En el caso particular de las aves (Carré y Conan, 1989) y de la misma forma que en los cerdos, no se pudo establecer una correlación entre las digestibilidades aparentes de las diferentes variedades de guisantes y los IT.

En lo que se refiere a los lechones, parece ser que los factores antinutritivos son los directamente responsables de la menor digestibilidad de la proteína (Huisman y Le Guen, 1991). Sin embargo, Bertrand et al., (1988) no observaron un efecto negativo con la adición de lectinas purificadas en cerdos jóvenes, por lo que puede deducirse que los IT son los factores directamente implicados en la menor digestibilidad de la proteína.

En investigaciones también realizadas por Huisman y Le Guen (1991), estos autores demostraron que la fracción de carbohidratos aislada de los guisantes añadida a raciones de cerdos no afectaba la digestibilidad de las proteínas. Por otra parte, hay considerable evidencia de que los constituyentes de las paredes celulares de los guisantes puedan estar implicados en la reducción de la digestibilidad de la proteína (Gdala et al., 1991; Jondreville et al., 1992; Hauschild y Kohler, 1991). En este sentido, las investigaciones realizadas por Grosjean et al. (1992) así lo avalan, ya que encontraron digestibilidades relativamente bajas de la proteína con la utilización de cascarillas de guisantes frente a guisantes enteros y descascarillados.

Por otra parte, Carré et al. (1991) sugieren que un factor no específico afecta la digestibilidad de la proteína y del almidón de los guisantes en las aves, quedando en un segundo plano el efecto de los FAN "per se". También se cree que la fuerte cohesión celular en el cotiledón es la causa de la escasa accesibilidad de los enzimas digestivos a los nutrientes.

En el caso particular de las habas, los estudios realizados demuestran que existe una gran variabilidad entre las diferentes variedades. Así, en las investigaciones en las que se comparaban variedades exentas de taninos (flores blancas) con altas en taninos, se comprobó que las primeras poseían unas digestibilidades más altas de proteína y aminoácidos tanto en cerdos (Duee et al., 1979; Liebert y Gebhardt, 1983; Bourdon y Pérez, 1984; Jansman et al., 1989; Maillard et al., 1990 y Heinz et al., 1991), como en aves (Guillaume, 1978 y Lacassagne et al., 1988, 1991) (cuadro 10).

Cuando se compararon cultivares de habas que poseían diferentes concentraciones de taninos, Martin Tanguy et al., (1977) pudieron también demostrar en pollos una disminución de la digestibilidad aparente de la proteína en aquellos cultivares con taninos presentes en altas proporciones. De igual forma, Jansman et al., (1993) estudiaron la digestibilidad aparente de la proteína en lechones demostrando que los coeficientes de digestibilidad disminuían de forma paralela en aquellas variedades altas en taninos (cuadro 10). Una correlación

significativamente negativa también fue puesta en evidencia por Garrido et al., (1989) entre 24 variedades diferentes en la digestibilidad "in vitro" de la proteína.

Cuadro 10. Efecto de la concentración de taninos y del descascarillado sobre la digestibilidad de la proteína y los aminoácidos en cerdos y aves

| Ref. | Especie | Parámetro | Alto tanino | Bajo tanino | Descascarillado |
|------|----------|-----------|-------------------|-------------------|-------------------|
| a | Cerdos | Proteína | 17.9 ^a | 80.2 ^b | |
| b | Cerdos | Proteína | 77.1 ^a | 85.1 ^b | |
| c | Aves | Proteína | 70.4 ^a | 80.6 ^b | |
| d | Lechones | Proteína | 74.4 ^a | 79.1 ^b | |
| | | Lisina | 77.2 ^a | 80.4 ^b | |
| | | Met+Cys | 58.9 ^a | 62.1 ^b | |
| | | Treonina | 72.3 ^a | 76.8 ^b | |
| e | Cerdos | Proteína | 85.2 | | 89.4 |
| f | Lechones | Proteína | 75.3 ^a | 85.3 ^b | |
| g | Aves | Proteína | 66.9 ^a | 82.6 ^b | |
| h | Aves | Proteína | 69.4 ^a | 84.2 ^b | |
| i | Cerdos | Proteína | 81.8 ^a | 84.6 ^b | 87.7 ^b |
| | | Lisina | 86.7 | 88.2 ^b | 90.9 |
| | | Metionina | 78.1 | 77.3 ^b | 81.8 |
| | | Treonina | 80.8 ^a | 82.4 ^a | 86.9 ^b |
| j | Lechones | Proteína | 71.5 ^a | 85.7 ^b | |
| | | Lisina | 84.3 ^a | 91.6 ^b | |
| | | Metionina | 68.1 ^a | 79.6 ^b | |
| | | Treonina | 73.0 ^a | 82.3 ^b | |

a, Bourdon y Perez, 1984; b, Duee et al.,1979; c, Guillame, 1978; d, Heinz et al., 1991; e, Henry y Bourdon, 1972; f y j, Jansman et al., 1989 ,1993; g y h, Lacassagne et al., 1988, 1991; i, Liebert y Gebhardt, 1983

Las cascarillas, en donde se localizan los taninos, también han sido utilizadas para estudiar el efecto de estos factores antinutritivos. Así Jansman et al., (1991) observaron que la inclusión de cascarillas procedentes de habas en raciones para cerdos causaba la disminución de la digestibilidad de la proteína cuando se comparaban con raciones con cascarillas de guisantes y habas de una variedad exenta en taninos. Este efecto puede deberse a un incremento en el peso y en las actividades de tripsina y amilasa del páncreas, y a una inhibición de la actividad de la tripsina en el intestino y de las dipeptidasas en su mucosa (Ahmed et al., 1991; Longstaff y McNab, 1991).

Distintos tratamientos tecnológicos han sido utilizados con el propósito de mejorar el valor nutritivo de las leguminosas grano y, en particular, la digestibilidad de la proteína. En este sentido, Van der Poel et al., (1991) demostraron que la reconstitución (humedad y almacenamiento en anaerobiosis de las semillas durante varios días) y la extrusión causaban un 50% de reducción en la concentración de taninos en las judías, produciéndose un aumento

en la digestibilidad "in vitro" de la proteína. También se ha comprobado que la germinación durante 5 días incrementa la digestibilidad proteica de las habas (Savelkoul et al., 1991).

Sin embargo, los efectos de los tratamientos tecnológicos (granulación, copos, extrusión, autoclave) sobre el valor nutritivo de las leguminosas grano no ofrecen grandes ventajas cuando se utilizan en cerdos en fase de acabado. Los estudios realizados con habas (Ivan y Bowland, 1976; Aherne et al., 1977) o guisantes (Bertrand et al., 1982; Grosjean y Gatel, 1989; Marlier et al., 1989 y Grosjean et al., 1991) así lo demuestran. De igual modo, Sève et al., (1985) no lograron, en lechones, modificaciones en la digestibilidad de la proteína cuando utilizaron una variedad de primavera de guisantes en migajas, descascarillados y sometidos a percolación con enzimas amilolíticos. Por el contrario (cuadro 11), Bengala Freire et al., (1989, 1991) observaron en lechones destetados alimentados con raciones que contenían 45% de guisantes de primavera e invierno sin tratar y sometidos a extrusión aproximadamente un 5% de incremento en la digestibilidad aparente de la proteína. Esta mejora no se hizo patente en los animales que consumieron 30% (Bengala Freire et al., 1989). Este efecto podría ser debido a la probable inactivación de los factores antinutritivos por el tratamiento térmico. También se puede admitir que el beneficio obtenido por la extrusión pueda haber estado asociado al cambio en la estructura del almidón y a la mejora de su digestibilidad, causando con ello una reducción en la producción de proteína endógena. Van der Poel et al., (1991), por otro lado, también demostraron que el tratamiento térmico puede modificar la calidad de la proteína de las judías. La utilización del procesado a vapor (alta temperatura-tiempo muy reducido) produjo un aumento de la digestibilidad del nitrógeno y la lisina en judías administradas a lechones. Estos resultados llevan a la conclusión que los FAN (lectinas y factores antiproteasas del tratamiento térmico, no son los responsables de la marcada diferencia en la digestibilidad ileal encontrada con esta semilla. Posiblemente, las alteraciones producidas en la proteína de depósito (glicoproteína II, faseolina) por el tratamiento tecnológico fueron las responsables del aumento de digestibilidad.

Los estudios realizados por Batterham et al., (1990) sobre la digestibilidad ileal de la lisina en cerdos apoya la hipótesis señalada por Hurrell et al., (1976), quienes indican que cuando se aplica tratamiento térmico es mayor la disminución de su valor biológico que el descenso de su digestibilidad. Resultados realizados por Barneveld et al., (1991) corroboran esta hipótesis y confirman que el calor es el agente causal de la disminución de la utilización de la lisina en guisantes suministrados a cerdos en crecimiento. Los estudios realizados sobre retención de lisina demuestran que en guisantes calentados a diferentes temperaturas, a pesar de incrementarse la proporción de lisina digestible ileal, ésta es aparentemente absorbida en una forma que es utilizada ineficientemente (cuadro 12).

En aves (cuadro 13), tratamientos tecnológicos tales como el autoclave, la granulación, los copos o la extrusión mejoraron significativamente la digestibilidad de las habas (Guillaume, 1978; Huyghebaert et al., 1979; Lacassagne et al., 1988) y los guisantes (Huyghebaert et al., 1979; Carré et al., 1987, 1991; Conan y Carré, 1989). De la misma forma que con los cerdos, parece existir una respuesta más aparente en los animales jóvenes que en los adultos (Carré et al., 1991). Sin embargo, y dependiendo de las variedades utilizadas, parece ser que el efecto de los tratamientos térmicos es mucho más pronunciado en el caso de

los cultivares de guisantes de invierno que en los de primavera (Conan y Carré, 1989; Carré et al., 1991). Según estos últimos investigadores (Carré et al., 1991), es probable que el efecto beneficioso producido por los tratamientos termo-mecánicos (autoclave, granulación) en el guisante se deba más bien a la rotura de las paredes celulares en el cotiledón, que facilita la accesibilidad de los nutrientes a los enzimas digestivos, que a la inactivación de los factores antinutritivos. Con habas, la simple molienda de la semilla produce un incremento de la digestibilidad del almidón sin modificarse la de la proteína (Totsuka et al., 1977; Lacassagne et al., 1991). En guisantes, también con molienda fina se produce una mejora de la digestibilidad del almidón y la proteína pero ésta no se afecta cuando la ración se ofrece en forma granulada (Conan et al., 1992). Marquardt (1989) sugirió que el tratamiento térmico puede neutralizar el efecto de los taninos, reduciendo su interacción con la proteína de la ración y produciendo así un aumento en la digestión y absorción de aquélla.

Cuadro 11. Efecto del tratamiento tecnológico de los granos de leguminosas sobre la digestibilidad de la proteína en raciones para cerdos

| Ref. | Leguminosas | Tratamiento | Animal | Criterio | Con/sin trat. |
|------|-------------------------|--|---------------------|----------|---------------|
| a | 25% habas | Autoclave | Cerdos | 1 | Ninguno |
| b | 60% habas | Autoclave | Cerdos | 2 | Ninguno |
| c | 30% guisantes primavera | Extrusión | Lechones | 1 | Ninguno |
| | 45% guisantes primavera | Extrusión | 28-56 d | 1 | 0,821/0,784 |
| d | 45% guisantes primavera | Extrusión | 28-56 d | 1 | 0,873/0,819 |
| | 45% guisantes invierno | Extrusión | 28-56 d | 2 | Ninguno |
| e | 33% guisante rugoso | Extrusión | Cerdos | 1 | 0,858/0,726 |
| f | 40% guisante primavera | Granulado | Cerdos | 2 | Ninguno |
| | 40% guisante invierno | Granulado | Cerdos | 1 | Ninguno |
| g | 35% guisante primavera | Copos | Cerdos | 1 | Ninguno |
| | 25% guisante primavera | Extrusión | Cerdos | 1 | Ninguno |
| h | 41% guisante primavera | Migajas, descascarillado y precolación con enzimas amilolíticas | Lechones 12-29 d | 1 | Ninguno |

a, Aherne et al., 1977. b, Ivan y Bowlnd, 1976. c, Bengala Freire et al., 1989. d, Bengala Freire et al., 1991
 e, Bertrand et al., 1982. f, Grosjean et al., 1989. g, Marlier et al., 1989. h, Sève et al., 1985.
 1 - Digestibilidad aparente fecal. 2 - Digestibilidad aparente ileal.

Cuadro 12. Retención estimada de lisina en cerdos en crecimiento alimentados con raciones que contenían guisantes tratados térmicamente (Batterham, 1990)

| | 0° | 110° | 135° | 150° | 165° |
|---------------------------|------|------|------|------|------|
| Ganancia de peso | 498 | 482 | 477 | 450 | 314 |
| Índice de conversión | 2,6 | 2,7 | 2,8 | 2,9 | 4,5 |
| Lis retenida/Lis digerida | 0,72 | 0,65 | 0,64 | 0,58 | 0,42 |

Cuadro 13. Efecto del tratamiento tecnológico de los granos de leguminosas sobre la digestibilidad de la proteína en raciones para aves

| Ref. | Leguminosas | Tratamiento | Animal | Con/sin trat. |
|------|--------------------------|-----------------------|--------------|---------------|
| a | 33 ó 66% habas | Autoclave | Pollos 3 sem | 0,760/0,704 |
| b | 50% habas | Copos | Aves adultas | 0,820/0,780 |
| | | Extrusión | | 0,830/0,780 |
| | | Granulado frío | | 0,820/0,780 |
| | | Granulado vapor | | 0,810/0,780 |
| | | Granulado vapor | | 0,706/0,669 |
| c | 48% habas | Granulado vapor | Pollos 3 sem | 0,872/0,826 |
| | 48% habas flores blancas | Granulado vapor | Pollos 3 sem | Ninguno |
| d | 48% habas | Molienda fina | Pollos 3 sem | Ninguno |
| | 48% habas flores blancas | Molienda fina | Pollos 3 sem | Ninguno |
| e | 50% guisante invierno | Granulado simple | Aves adultas | 0,802/0,772 |
| | | Granulado doble | | 0,796/0,772 |
| f | 47% guisante invierno | Granulado vapor | Pollos 3 sem | 0,808/0,759 |
| | 47% guisante primavera | Granulado vapor | Pollos 3 sem | 0,839/0,803 |
| g | 40% guisante primavera | Autoclave | Pollos 3 sem | 0,829/0,786 |
| | 40% guisante invierno | Autoclave | Pollos 3 sem | 0,851/0,678 |
| h | 40% guisante primavera | Granul. molido normal | Aves adultas | 0,829/0,759 |
| | 40% guisante primavera | Granulado molido fino | Aves adultas | 0,811/0,794 |
| i | 50% guisante | Copos | Aves adultas | 0,880/0,850 |
| | | Extrusión | | 0,870/0,850 |
| | | Granulado fio | | 0,860/0,850 |
| | | Granulado vapor | | 0,870/0,850 |

a, Guillaume, 1978. b, i, Huyghebaert et al., 1979. c, d, Lacassagne et al., 1991.

e, f, Carré et al., 1987, 1991. g, Conan y Carré, 1989. h, Conan et al., 1992.

En el caso particular de los altramuces, debido a que comparativamente con las otras leguminosas están exentos de factores antinutritivos lábiles al calor, muy poco efecto cabe esperarse con el uso de los tratamientos tecnológicos.

En trabajos realizados por Batterham et al., (1986 a), se observó que el tratamiento térmico no alteraba el crecimiento de cerdos alimentados con altramuz, concluyendo estos investigadores que esta semilla no poseía factores antinutritivos termolábiles que pudieran afectarse por el calor. Sin embargo, apreciaron una disponibilidad baja de la lisina que podría explicar el efecto negativo sobre el crecimiento. Investigaciones posteriores de Batterham et al., (1986 b) confirman una biodisponibilidad reducida de la lisina del altramuz frente a la de la soja (44% vs 80%), comprobándose que el tratamiento térmico no mejora la utilización de este aminoácido.

La causa de estos hechos no ha sido aclarada, aunque se ha sugerido que podría deberse a la presencia de un inhibidor del crecimiento todavía no identificado o a que la baja disponibilidad de la lisina se deba a que este aminoácido está en una forma que es absorbida,

pero no es eficientemente utilizada. Por el contrario, en aves y ratas esta digestibilidad es más alta (0,89 y 0,82, respectivamente).

Un gran interés se ha despertado en los últimos años en la alimentación de rumiantes sobre la protección de la proteína con objeto de impedir su alteración en el rumen, ya que gran parte de esta proteína es altamente degradable (Satter, 1986). El método más utilizado de protección es la aplicación del calor o el empleo de la granulación o la extrusión. Existe muy poca información sobre la degradación microbiana de las proteínas de las leguminosas grano en el rumen. En general, estas fuentes proteicas poseen una alta degradabilidad después de ser incubadas en éste durante períodos mayores de 24 horas (ARC, 1980; Freer y Dove, 1984; Focant et al., 1990; Aguilera et al., 1992).

El tratamiento con calor seco produce una reducción en la solubilidad de la proteína de las habas, pero no modifica la proporción de la que pasa sin degradar al intestino delgado (McMeniman y Armstrong, 1979), probablemente debido a que la temperatura empleada (105°C) no es suficiente para proteger esta proteína. Por otra parte, el tratamiento con autoclave disminuye la solubilidad y la velocidad de fermentación en el rumen tanto de los componentes de la materia seca como del nitrógeno de diferentes leguminosas tales como altramuces, guisantes y habas (Aguilera et al., 1992; figura 2). De igual modo, la extrusión de semillas de guisantes reduce la solubilidad de la proteína y aumenta el flujo duodenal del nitrógeno bacteriano y el del alimento en terneros (Focant et al., 1990; Thewis et al., 1992); sin embargo, estos parámetros no se ven afectados cuando el guisante se emplea en forma de copos (Focant et al., 1990).

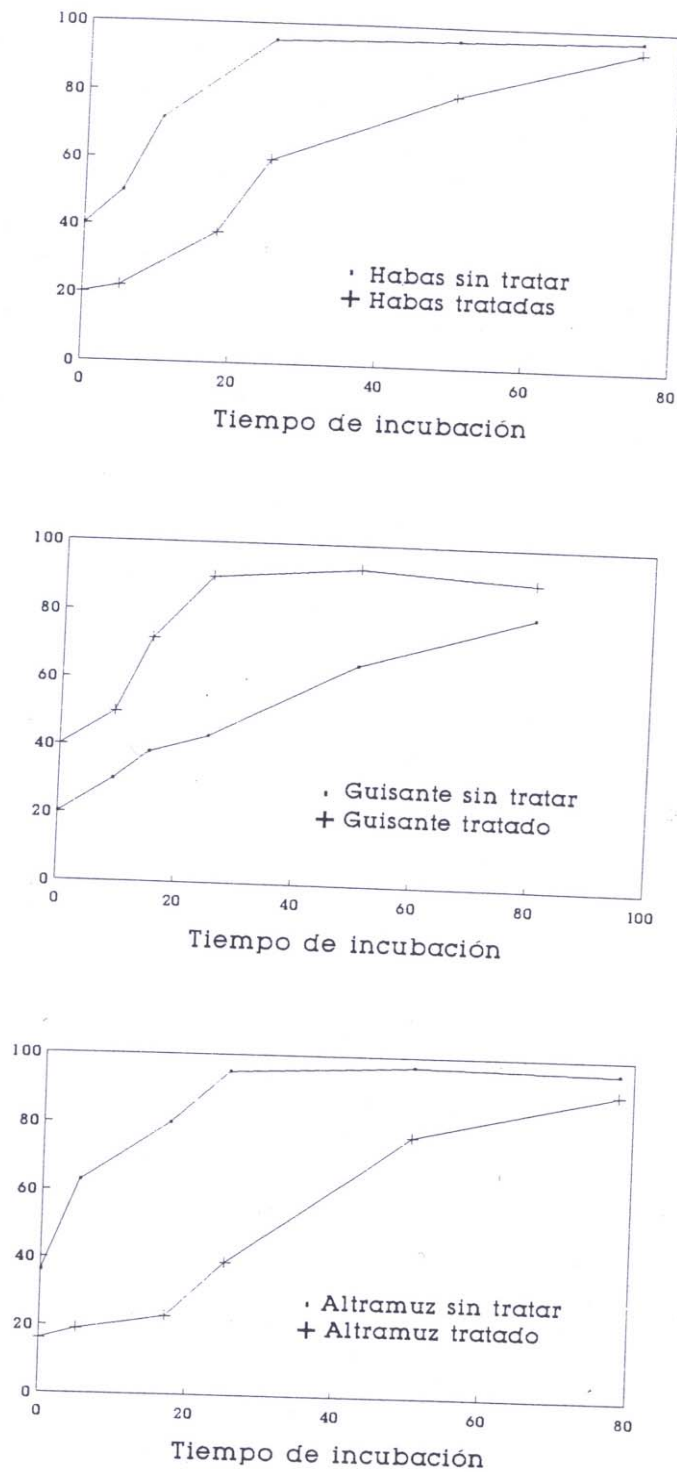
Con otros tipos de tratamientos, como la utilización de formaldehído, se observa una clara reducción de la digestibilidad "in vitro" del nitrógeno en habas y altramuces, pero en pruebas de crecimiento con corderos y producción de leche con vacas en lactación no parece haber una respuesta significativa cuando se aplica a habas (Sharma y Nicholson, 1975) y a altramuces (Fortune et al., 1980; Davis et al., 1987).

Estos datos sugieren que es difícil incrementar de un modo efectivo a nivel intestinal la cantidad de aminoácidos procedentes de las proteínas de las leguminosas grano tratadas con formaldehído, o que el incremento de estos aminoácidos puede estar relacionado con una baja disponibilidad de algunos de los aminoácidos esenciales (Ashes et al., 1984). Se ha de considerar también la posibilidad de que una protección efectiva contra la fermentación de estas proteínas que contienen concentraciones altas de factores antinutritivos, puede ser contraproducente si se produce el paso de estos factores al intestino delgado.

En experiencias realizadas por Benchaar et al. (1992), se demuestra que la extrusión (195°C) de habas y altramuces protege su proteína de la digestión bacteriana en el rumen, aumentando por consiguiente la porción del nitrógeno alimentario que penetra en el intestino delgado. Después de la extrusión, los valores de PDIN aumentaron 6 y 32% y los de PDIE, 13 y 194% respectivamente en ambas semillas (cuadro 14). Los valores de PDIN y PDIE

obtenidos para las dos leguminosas no tratadas son similares a los obtenidos por Andrieu et al. (1988).

Figura 2. Desaparición del nitrógeno en rumen (%) (Aguilera et al., 1992)



Cuadro 14. Degradabilidad teórica y proteína digestible en intestino de vacas lecheras de habas y altramuces sometidos a extrusión (Benchaar et al., 1992)

| Granos | DT (%) | PDIA | PDIN | PDIE |
|------------|--------|-----------|------|------|
| | | (g/kg MS) | | |
| Habas | | | | |
| Sin tratar | 73,3 | 61 | 161 | 134 |
| Tratadas | 66,5 | 79 | 171 | 152 |
| Altramuces | | | | |
| Sin tratar | 95,1 | 13 | 224 | 84 |
| Tratadas | 53,0 | 190 | 295 | 247 |

En trabajos realizados con la técnica de bolsas de nylon, Cross et al., (1992 a,b) estudiaron el efecto de la extrusión sobre la desaparición ruminal e intestinal de los aminoácidos de las semillas de habas y altramuces en vacas no lecheras, demostrando que este tratamiento protegía la proteína de la degradación ruminal.

Así, la disminución de la degradabilidad de la proteína en altramuces sometidos a extrusión a 120 y 150°C fue de 86,9-73,6% frente a 98,4% en el caso de la leguminosa no tratada. En el caso de las habas sometidas a extrusión a 120°C y con una exposición en rumen de 4, 8 y 16 horas, ésta fue reducida 29, 31 y 18%, respectivamente, en relación a las habas no tratadas. En los altramuces, la cantidad de proteína disponible en intestino es 15 y 31 veces mayor que en la no tratada (cuadro 15).

Cuadro 15. Desaparición de la proteína de habas y altramuces sin tratar y extrusionados y disponibilidad intestinal de la proteína no degradada en el rumen (PNDR) (Cross et al., 1992 a,b)

| | Rumen | Intestino | PNDR |
|-----------------------|--------------------|-------------------|-------------------|
| Habas sin tratar | | | |
| 4h | 78,2 ^{bc} | 20,2 ^b | 92,7 ^b |
| 8h | 83,9 ^b | 14,9 ^c | 92,5 ^b |
| 16h | 88,2 ^a | 10,7 ^c | 90,7 ^d |
| Habas extrusionadas | | | |
| 4h | 55,7 ^e | 42,4 ^a | 95,7 ^a |
| 8h | 58,0 ^d | 40,2 ^a | 95,7 ^a |
| 16h | 72,0 ^c | 25,2 ^b | 90,0 ^c |
| Altramuz sin tratar | 98,4 ^a | 0,8 ^c | 50,0 ^c |
| Altramuz extrusionado | | | |
| 120° C | 86,9 ^b | 11,8 ^b | 90,1 ^b |
| 150° C | 73,6 ^c | 25,0 ^a | 94,7 ^a |

5. DIGESTIBILIDAD DE LOS CARBOHIDRATOS Y DE LA ENERGIA. EFECTO DE LOS TRATAMIENTOS TECNOLOGICOS.

El componente químico de mayor proporción en las leguminosas grano son los carbohidratos que representan más del 70% del peso total de la semilla. Estos azúcares están constituidos por los mono y oligosacáridos, el almidón y otros polisacáridos. El almidón es el carbohidrato más abundante de estas leguminosas, variando su participación desde el 35% (lentejas) hasta el 53% (habas). En esta variación, la amilosa puede constituir un componente significativo del almidón que se sitúa desde el 46% (garbanzo y lentejas) hasta el 34% (guisantes y habas).

Sorprendentemente, en los últimos años se ha generado muy poca información sobre la digestibilidad del almidón de las leguminosas en las aves, habiendo sido determinada en los guisantes por Longstaff y McNab, (1987), Carré et al., (1987, 1991) y Conan y Carré, (1989), y en las habas por Guillaume, (1978) y Lacassagne et al., (1988, 1991). Las digestibilidades de los polisacáridos no amiláceos, la sacarosa y los alfa-galactósidos han sido estudiadas recientemente utilizando guisantes y altramuces en aves por Carré et al., (1991) y Brenes et al., (1992).

En estos estudios, y sobre todo en aquellos referidos a los guisantes, se ha demostrado que el almidón es en gran manera menos digerido en aves adultas que los almidones procedentes de cereales (Longstaff y McNab, 1987). También se demostró que ninguno de los tratamientos utilizados - molienda con un tamaño de partícula menor de 1 mm, autoclave, calentamiento en horno, descascarillado o adición al guisante de una enzima con actividad celulásica - era capaz de incrementar la digestibilidad del almidón por encima de 91%, estando por debajo del coeficiente de digestibilidad de un cereal como el trigo (98%). Las causas de esta baja digestibilidad podrían ser el tamaño del gránulo de almidón, la accesibilidad de los enzimas y el tiempo de exposición. Resultados recientes obtenidos por Yuste et al., (1991) con almidones purificados preparados de guisantes y habas sugieren que, aunque el tamaño de la partícula y la presencia de carbohidratos de la pared celular pueden influir en la digestión, el almidón de las leguminosas es "per se" digerido de forma más lenta y menos efectiva, tanto en aves adultas como en aves jóvenes, que los almidones del trigo y de la mandioca (cuadro 16).

Cuadro 16. Digestibilidad verdadera del almidón procedente de distintas materias primas en aves jóvenes y adultas (McNab, 1992)

| Mezcla | Digestibilidad del amidón (%) | |
|---------------|-------------------------------|---------|
| | Adultas | Jóvenes |
| Soja:Trigo | 99,0 | 99,4 |
| Soja:Mandioca | 99,2 | 99,3 |
| Soja:Guisante | 98,0 | 94,2 |
| Soja:Habas | 64,5 | 78,2 |
| Soja:Patatas | 70,2 | 39,3 |

El efecto positivo del tratamiento térmico (autoclave) sobre la digestibilidad del almidón en habas fué observado primeramente por Guillaume (1978), quien demostró su efecto beneficioso sobre los cultivares libres de taninos. En estudios realizados recientemente, se ha demostrado que, con tratamientos menos drásticos como la molienda realizada con tamices de 1 mm en vez de 3 mm de diámetro (Lacassagne et al., 1991) o la granulación (Carré et al., 1987, 1991; Lacassagne et al., 1988), estos métodos son capaces de mejorar muy claramente la digestibilidad del almidón y la energía metabolizable aparente de los guisantes y de las habas (cuadros 17, 18 y 19).

Estas variaciones pueden haber sido debidas a la dificultad en la accesibilidad de los enzimas observada en guisantes (Carré y Brillouet, 1989; Carré et al., 1991) y en lentejas, guisantes y judías por Wursch et al., (1986) en estudios "in vivo" e "in vitro", y también a la presencia de una mayor proporción de la fracción amilosa en el gránulo de almidón (Bressani y Elias, 1988; Sugimoto, 1980).

Cuadro 17. Efecto de la molienda y la granulación sobre la energía y la digestibilidad del almidón y la proteína de guisantes en aves (Carré et al., 1991)

| | | Guisantes | | | |
|---------------------|------|-----------|--------------------|-----------|--------------------|
| | | Invierno | | Primavera | |
| | Edad | Molido | Granulado y molido | Molido | Granulado y molido |
| EMA | J | 10,86 | 12,52 | 11,56 | 12,62 |
| | A | 11,28 | 12,33 | 11,77 | 12,84 |
| Digest. almidón | J | 80,90 | 95,70 | 84,70 | 95,00 |
| | A | 84,10 | 96,30 | 84,60 | 96,90 |
| Digest. apar. prot. | J | 75,90 | 80,80 | 90,30 | 83,90 |
| | A | 74,60 | 71,90 | 75,30 | 81,70 |

Carré et al., (1987) y Lacassagne et al., (1988), al considerar los valores de EMA y la digestibilidad de la proteína y del almidón de guisantes y habas, demostraron que la mayoría de las variaciones en la EMA se explicaba por modificaciones en la digestibilidad de ambos nutrientes. La mejora de la EMA de las habas sometidas a distintos tratamientos térmicos se recoge en el cuadro 20. Estos resultados son corroborados al llevarse a cabo una recopilación de estudios realizados con guisantes en el INRA recogida por Carré y Lacassagne (1992). Estos autores demostraron la falta de correlación entre la EMA y la cantidad de almidón y proteína, poniendo de manifiesto que las variaciones de la digestibilidad de estos nutrientes son las responsables de la modificación de la energía. En el trabajo de Carré et al. (1991) se demuestra que la granulación induce un cambio en la EMA y la digestibilidad del almidón que no ocurre en el caso de raciones no granuladas. En general, se podría decir que, cuando las leguminosas son tratadas (autoclave, granulación, molienda, etc.), las variaciones en la digestibilidad del almidón se reducen marcadamente entre las muestras. Esto permite que la composición química de las semillas sea usada eficientemente para la predicción de la energía de las semillas tratadas. Por lo tanto, mediante el análisis químico de muestras de guisantes granulados o sometidos a autoclave se puede calcular la energía por análisis de regresión. De

este modo se comprueba que un incremento del 1% de almidón más proteína mejora el valor de la energía en 28 kcal kg⁻¹ (Carré y Lacassagne, 1992).

El efecto positivo de los tratamientos térmicos o mecánicos no parece ser tan efectivo en los altramuces como lo es en los guisantes y las habas. Watkins y Mirosh (1987) no encontraron diferencias utilizando altramuces tratados a concentraciones de 10 y 20% en la ración de ponedoras frente a las semillas sin tratar. Sin embargo, Watkins et al. (1988) con la utilización de 10% en broilers produjeron una mejora en el crecimiento por medio de la extrusión. Por otra parte, Molina et al. (1983), utilizando altramuces de la variedad Multolupa, demostraron que con el tratamiento en el autoclave de las semillas se producía una mejora del 27% de la EMA (2129 vs 2699 kcal kg⁻¹). Este beneficio se atribuyó a una hidrólisis de las galactanas que podrían así ser mejor utilizadas por el animal. Por el contrario, en los trabajos realizados recientemente por Brenes et al. (1993), el tratamiento con autoclave no modificó significativamente los valores de la EMA en pollos a las tres semanas de edad. Sin embargo, el descascarillado del altramuz produjo un aumento significativo desde 2368 hasta 2784 kcal/kg.

Cuadro 18. Efecto de distintos tratamientos térmicos y mecánicos sobre el valor energético y los coeficientes de digestibilidad (%) de la proteína y del almidón del guisante

GUISANTE INVIERNO FRISSON. Carré y col., (1987).

| Cereal base | Tratamiento | EMAn (kcal/kg) | Digestibilidad | |
|-------------|-------------------|-------------------|----------------|---------|
| | | | Proteína | Almidón |
| Maíz | Molienda 2 mm | 3055 | 80,9 | 92,1 |
| | Granulación | 3110 | 83,1 | 96,8 |
| | Doble granulación | 3173 | 82,5 | 97,3 |
| Trigo | Molienda 2 mm | 2893 | 73,5 | 90,9 |
| | Granulación | 3027 | 77,2 | 95,0 |
| | Doble granulación | 3008 | 76,7 | 96,8 |

GUISANTE PRIMAVERA PROGRETTA (100%). Longstaff y McNab (1987).

| Tratamiento | EMV (Kcal/kg) | Digestibilidad almidón |
|-----------------|---------------|------------------------|
| Entero | 2367 | 75,6 |
| Molido 0,5 mm | 2719 | 88,1 |
| Calentado | 2786 | 90,4 |
| Autoclave | 2642 | 91,2 |
| Descascarillado | 2960 | 92,8 |
| Molido 1 mm | 2790 | 92,3 |
| Cocido | 2915 | 91,8 |

GUISANTE PRIMAVERA PROGRETTA (100%). Conan y Carré (1989)

| Tipo de guisante | Tratamiento | EMAn (kcal/kg) | Digestibilidad | |
|------------------|-------------|----------------|----------------|----------|
| | | | Almidón | Proteína |
| Primavera | Sin tratar | 2652 | 78,6 | 82,9 |
| | Autoclave | 3010 | 82,9 | 94,0 |
| Invierno | Sin tratar | 2427 | 74,3 | 78,3 |
| | Autoclave | 2907 | 86,7 | 93,8 |

Cuadro 19. Digestibilidad del almidón (DA) y energía metabolizable aparente (EMA) en cotiledones y semillas enteras reconstituidas de habas (Lacassagne et al., 1988)

| | Normal | | Fina | |
|---------------------------------|-------------------|---------------------|--------------------|---------------------|
| | DA | EMA | DA | EMA |
| Semillas enteras reconstituidas | | | | |
| Alfred | 70,3 ^b | 9,55 ^a | 90,20 ^b | 12,38 ^{cd} |
| Blandine | 63,8 ^a | 9,20 ^a | 80,40 ^c | 11,29 ^{bc} |
| Cotiledones | | | | |
| Alfred | 74,4 ^b | 11,39 ^{bc} | 90,90 ^d | 14,94 ^e |
| Blandine | 60,7 ^a | 10,52 ^{ab} | 80,30 ^c | 13,49 ^d |

Cuadro 20. Mejora de la Energía Metabolizable de las habas después de un tratamiento térmico o mecánico.

| Autor | Tratamiento | Mejora | Edad animal |
|-----------------------------|----------------------|--------|-------------|
| Edwards y Duthie (1973) | Autoclave | 13 | 3-4 semanas |
| | Descascar. | 33 | |
| Guillaume (1974) | Granulación al vapor | 15 | 4 semanas |
| Mc Nab y Wilson (1974) | Micronización | 10,2 | Adulto |
| Shanon y Clandinin (1977) | Autoclave | 15 | 2-4 semanas |
| Guillaume (1978) | Autoclave | 6,8* | 3-4 semanas |
| | | 13,4* | |
| Nuyghebaert et al. (1979) | Aplastamiento | 12,7 | Adulto |
| | Extrusión | 7 | Adulto |
| | Granulación en frío | 9,5 | Adulto |
| | Granulación al vapor | 6,2 | Adulto |
| Lacassagne et al. (1988) | Granulación al vapor | 8,1* | 3 semanas |
| | | 11,6* | |
| | | 16,0** | |
| Castañón y Marquardt (1991) | Autoclave | 22,3 | Adulto |
| Lacassagne et al. (1991) | Molienda | 29,6* | 3 semanas |
| | | 22,7** | |
| | Descascar. | 19,2* | |

* Con taninos

** Sin taninos

Otra posible vía en la mejora del valor nutritivo del altramuz podría ser la utilización de enzimas. Así, Brenes et al. (1992), con una mezcla de carbohidrasas, proteasas y oligosacaridasas añadidas a raciones de broilers con 15, 35 y 45%, obtuvieron mejoras en la ganancia de peso del 4 al 7% y en la digestibilidad ileal y fecal de los alfa-galactósidos rafinosa y estaquiosa.

No son numerosas las determinaciones de la digestibilidad de los carbohidratos de las leguminosas en cerdos en el caso de los guisantes. La bibliografía sobre el valor energético del guisante es escasa, sobre todo si se considera la importancia de esta materia prima. Se ha comprobado en el cerdo la existencia de una relación muy estrecha entre el coeficiente de utilización digestiva aparente de la energía y el nitrógeno ($r = + 0,81$). Esta correlación, no es tan elevada en el caso de genotipos de guisantes ricos en taninos ($r = + 0,71$) (Pérez y Bourdon, 1992). Así, según los trabajos de Hlodversson (1987 a,b), la digestibilidad de la energía de los guisantes de flores coloreadas son significativamente inferiores a los genotipos de flores blancas. Estos resultados parecen estar causados por la presencia de taninos y por las reducidas concentraciones de almidón y la mayor participación de los constituyentes parietales de los guisantes.

Entre los guisantes de flores blancas hay que distinguir las variedades de invierno de las de primavera. Estas últimas presentan para cerdos un valor energético medio ligeramente superior a la de sus homólogas de invierno (cuadro 9), en razón a una composición en hidratos de carbono más favorable (concentraciones más altas en almidón y menores en fibra). Para los genotipos de primavera, la concentración energética media ($3,93 \text{ Mcal ED kg}^{-1}$) así como la amplitud en las variaciones observadas son idénticas a los valores obtenidos por otros autores (Lund y Hakansson, 1986; Hlodversson, 1987a,b; Leterme y Beckers, 1989).

La aplicación de la extrusión en el guisante en dietas para lechones (Bengala Freire et al., 1991; Aumaitre et al., 1992) produce un aumento significativo en la digestibilidad del almidón en ambas variedades, siendo este efecto más acusado en las de invierno que en las de primavera. Sin embargo, la digestibilidad de los alfa-galactósidos no se modifica ni por la variedad ni por el tratamiento térmico (cuadro 21).

Cuadro 21. Digestibilidad ileal (%) del almidón y de los alfa-galactósidos en lechones con dos variedades de guisantes (Bengala Freire et al., 1991)

| Guisantes | Almidón | Alfa-galactósidos |
|---------------|-------------------|-------------------|
| Primavera | | |
| Sin tratar | 97,1 ^a | 788,5 |
| Extrusionados | 98,9 ^c | 72,7 |
| Invierno | | |
| Sin tratar | 94,4 ^b | 76,2 |
| Extrusionados | 99,1 ^c | 75,3 |

Entre las habas de flores coloreadas, las variedades de primavera no se diferencian desde el punto de vista energético de sus homólogas de invierno (cuadro 9). De igual modo, los genotipos con bajas concentraciones de vicina y convicina no presentan un valor energético superior al de las variedades clásicas. Por otra parte, las últimas variedades "0 taninos" estudiadas en el INRA poseen un valor nutritivo aceptablemente alto y energías digestibles similares a las de las habas decorticadas (Bourdon y Pérez, 1992). El empleo del descascari-llado aumenta los valores de la energía digestible de las habas en aves (4,07 vs 3,84 Mcal kg⁻¹). Esta mejora de la digestibi-lidad es debida a una fuerte reducción en los constituyentes parietales (9,8 vs 2,2% de celulosa), y a una disminución de la concentración de taninos medianamente polimerizados que se encuentran presentes esencialmente en los tegumentos del grano (Martín Tanguy et al., 1977; Marquardt, 1989). Aunque los taninos pueden unirse al almidón, y consecuentemente inhibir la digestibilidad de éste "in vitro" (Desphande y Salunkhe, 1982), no se producen diferencias significativas entre distintas variedades de habas con concentraciones bajas, medias y altas en taninos (Jansman et al., 1993).

El descascarillado de las habas aumenta el valor nutritivo de este grano en la alimentación del cerdo. En este sentido, así lo demuestran las investigaciones de Bourdon y Pérez (1984) al comparar variedades ricas y pobres en taninos incluidas en la ración en un 30% y observar un empeoramiento en el índice de transformación del 11,8%. Los trabajos realizados por Van der Poel et al. (1992) demuestran, a su vez, que con el proceso de eliminación de la cascarilla de las semilla de habas se produce un aumento en la digestibilidad de la materia seca y del nitróge-no y una ligera mejora de la del almidón en cerdos de 35 kg de peso. El calor aplicado después del descascarillado y otros tratamientos no causan ninguna mejora (cuadro 22).

Cuadro 22. Efecto del procesado de las habas sobre la digestibilidad ileal aparente en cerdos de 35 kg de peso vivo (Van der Poel et al.,1992)

| Tratamiento | Materia seca | Proteína | Almidón |
|----------------------------------|--------------|----------|---------|
| Sin tratar y enteras | 63,2 | 67,4 | 94,9 |
| Descascarillada | 71,7 | 75,4 | 97,9 |
| Descascarillado y autoclave | 71,3 | 75,9 | 93,7 |
| Remojo, anaerobiosis y extrusión | 60,4 | 42,5 | 97,5 |

Existen pocas experiencias sobre el tratamiento tecnológico de los altramuces en cerdos y su efecto sobre la energía. Solamente los trabajos realizados por Batterham et al., (1986) señalan que la retención de la energía depositada en las canales no se modificaba por el tratamiento térmico (autoclave) de la semilla.

La riqueza en almidón de los granos de las leguminosas constituyen una fuente disponible de energía para los rumiantes, que puede ser mejorada por varias técnicas de procesado. Una alta disponibilidad de energía es esencial en el metabolismo proteico del rumen, tendiéndose con ello a minimizar la pérdida de amoniaco en éste (Simpson, 1983). Las leguminosas grano se caracterizan por la lenta digestibilidad del almidón, tal como se ha

indicado anteriormente. En el caso de los rumiantes, según los trabajos de Focant et al., (1990), la utilización de dos tratamientos tecnológicos como la extrusión y la producción de copos no causa un aumento en su digestión en el rumen, siendo el flujo duodenal del almidón similar en todos los tratamientos. El proceso de extrusión sólo es efectivo para gelatinizar el almidón de los guisantes e incrementar la fermentación de aquel en el rumen (Focant et al., 1990; Thewis et al., 1992). Existen muy pocos trabajos en la bibliografía consultada sobre la digestibilidad del almidón procedente de las leguminosas grano en rumiantes.

6. CONCLUSIONES

Del estudio realizado, se ha de resaltar la considerable variabilidad en la riqueza de nutrientes entre las diferentes especies de leguminosas (guisantes, habas y altramuces) y también en la presencia de factores antinutritivos, pudiendo todos ellos reducir su valor nutritivo. Se demuestra claramente el efecto positivo de los tratamientos mecánicos (descascarillado) y térmicos (autoclave, extrusión, etc.) sobre la actividad de los factores antinutritivos, y su efecto sobre la digestibilidad de la proteína, del almidón y de la energía en aves y lechones, siendo éste muy escaso o nulo en cerdos en crecimiento. En rumiantes existe muy poca información en relación con estos temas.

A pesar de que se han realizado numerosos estudios sobre la calidad de las leguminosas, son muy pocos los que sistemáticamente relacionan un tratamiento tecnológico óptimo y su efecto en el animal, y, a la vez, su repercusión sobre los factores antinutritivos existentes en estas semillas.

Es evidente que los cambios inducidos por el calor necesitan ser investigados desde un punto de vista bioquímico, siendo necesario también estudiar las modificaciones que producen en la proteína y los carbohidratos de estas leguminosas. Es preciso delimitar hasta qué punto estos cambios pueden ser contraproducentes para su valor nutritivo, e investigar métodos apropiados para conocer con exactitud la proyección real de estos tratamientos tecnológicos.

La utilización de enzimas (proteasas, amilasas, alfa-galactosidasas) que puedan facilitar la digestión de diversos nutrientes, así como la de aquellas enzimas con otras actividades (tanases, etc.) que puedan permitir la degradación de ciertos factores antinutritivos, pueden ser otros temas a abordar en el futuro en un intento de mejorar la calidad nutritiva de las leguminosas grano.

7. BIBLIOGRAFIA

- Aguilera, J.F. et al., (1992) *Anim. Feed Sci. Tech.* **36**, 101.
Aherne, F.X. et al., (1977) *Can. J. Anim. Sci.* **57**, 321.
Ahmed, A.E. et al., (1991) *Br. J. Nutr.* **65**, 189.
Anderson, R.L. et al., (1979) En: *Soy Protein and Human Nutrition*. Academic Press. pp: 209.
Andrieu, J. et al., (1988) En: *Alimentation des Bovins, Ovins et Caprins*. INRA. pp: 351.
Aumaitre, A. et al., (1992) En: *First European Conf. on Grain Legumes*. Angers, Francia. pp: 487.

- ARC, (1980) *The Nutrients Requirements of Ruminants Livestock*. CAB. pp: 351.
- Ashes, J.R. et al., (1984) Br. J. Nutr. 52, 239.
- Batterham, E.S. et al., (1984) Br. J. Nutr. 51, 85.
- Batterham, E.S. et al., (1986a) Br. J. Nutr. 56, 169.
- Batterham, E.S. et al., (1986b) Br. J. Nutr. 56, 645.
- Batterham, E.S. et al., (1990) Br. J. Nutr. 64, 679.
- Begbie, R. y Ross, A.W. (1993) J. Sci. Food Agric. 61, 301.
- Benchaar, C. et al., (1992) En: *First European Conf. on Grain Legumes*. Angers, Francia. pp: 491.
- Bengala-Freire, J. et al., (1989) Journées Rech. Porcine 21, 75.
- Bengala-Freire, J. et al., (1991) J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. 65, 154.
- Bertrand, D. et al., (1982) Sci. Alim. 2, 197.
- Bond, D.A. y Smith, D.B. (1989) En: *Recent Advances Research on ANF in Legume Seeds*. Pudoc. Wageningen, Holanda. pp: 285.
- Bourdon, D. y Pérez, J.M. (1984) Journées Rech. Porcine 16, 401.
- Bourdon, D. y Pérez, J.M. (1992) En: *First European Conf. on Grain Legumes*. Angers, Francia. pp: 521.
- Bradbear, N. y Boulter, D. (1984) Qual. Plant. Plant Foods Human Nutr. 34, 3.
- Brenes, A. et al., (1989) En: *Recent Advances Research on ANF in Legume Seeds*. Pudoc. Wageningen, Holanda. pp: 374.
- Brenes, A. et al., (1992) En: *First European Conf. on Grain Legumes*. Angers, Francia. pp: 477.
- Brenes, A. et al., (1993) Poultry Sci. (en prensa).
- Bressani, R. y Elias, L.G. (1988) En: *World Crops: Cool Season Food Legumes*. pp: 381.
- Bush, R.S. et al., (1991) En: *New Trends in Veal Calf Production*. Pudoc. Wageningen, Holanda. pp: 253.
- Cabrera, A. y Martin, A. (1986) J. Agric. Sci. 106: 377.
- Campbell, L.D. et al., (1980) Can. J. Anim. Sci. 60: 395.
- Carré, B. y Brillouet, J.M. (1986) J. Sci. Food Agric. 37: 341.
- Carré, B. et al., (1987) Br. Poult. Sci. 28: 219.
- Carré, B. y Brillouet, J.M. (1989) J. Assoc. Off. Anal. Chem. 72: 463.
- Carré, B. y Conan, L. (1989) En: *Recent Advances Research on ANF in Legume Seeds*. Pudoc. Wageningen, Holanda. pp: 103.
- Carré, B. et al., (1991) J. Agric. Food Chem. 39: 468.
- Carré, B. y Lacassagne, L. (1992) En: *First European Conf. on Grain Legumes*. Angers, Francia. pp: 479.
- Cerning-Beroard, J. y Filiatre, A. (1976) J. Sci. Food Agric. 24: 663.
- Chavan, J.K. et al., (1979) J. Food Sci. 46: 638.
- Conan, L. y Carre, B. (1989) Anim. Feed Sci. Tech. 26: 337.
- Conan, L. et al., (1992) En: *First European Conf. on Grain Legumes*. Angers, Francia. pp: 479.
- Cros, P. et al., (1992a) Can. J. Anim. Sci. 72: 89.
- Cros, P. et al., (1992b) Can. J. Anim. Sci. 72: 359.
- Davis, J.J. et al., (1987) En: *Recent Advances Anim. Nutr.* Australia New England. pp: 5A.
- Desphande, S.P. y Salunkhe, S. (1982) J. Food Sci. 47: 2080.
- Desphande, S.P. y Nielsen, S. (1987) J. Food Sci. 52: 1326.
- Do Prado, et al., (1989) Reprod. Nutr. Developm. 29: 425.
- Duée et al., 1979. Journées Rech. Porcine 11: 277.
- Focant, M. et al., (1990) Anim. Feed Sci. Tech. 28: 303.
- Fortune, J.A. et al., (1980) Proc. Austr. Soc. Anim. Prod. 13:474.
- Freer, M. y Dove, H. (1984) Anim. Feed Sci. Tech. 11: 87.
- Frolich, A.A. y Marquardt, R.R. (1983) J. Sci. Food Agric. 34:153.

- Garrido, A. et al., (1989) En: *Recent Advances Research on ANF in Legume Seeds*. Pudoc. Wageningen, Holanda. pp: 160.
- Gatel, F. (1992) En: *First European Conf. on Grain Legumes*. Angers, Francia. pp: 461.
- Gdala, J. et al., (1991) En: *Proc. Sixth Symp. on Protein Metabolism and Nutrition*. Herning. Dinamarca. pp: 240.
- Green, A.G. y Oram, R.N. (1983) *Anim. Feed Sci. Tech.* 9: 271.
- Griffiths, D.W. (1981) *J. Sci. Food Agric.* 32: 797.
- Griffiths, D.W. (1984). *J. Sci. Food Agric.* 42: 468.
- Grosjean, F. (1989) *J. Rech. Porcine* 21: 59.
- Grosjean, F. y Gatel, F. (1989) En: *Recent Advances of Research on ANF in Legume Seeds*. Pudoc. Wageningen, Holanda pp: 263.
- Grosjean, F. et al., (1991) *Journées Rech. Porcine* 23: 53.
- Grosjean, F. et al., (1992) *Journées Rech. Porcine* 24: 173.
- Guillaume, J. (1978) *Arch. Geflugelk.* 42: 179.
- Hauschild, A. y Köhler, R. (1991) En: *Proc. Sixth Symp. on Protein Metabolism and Nutrition*. Herning, Dinamarca. pp:21.
- Heinz et al., (1991) *Proc. 42nd Annual Meeting EAAP*. Berlin. P3.9.
- Hill, G.D. (1977) *Nutr. Abst. Rev.* 47: 511.
- Hlodversson, R. (1987a) *Swed. J. Agric. Res.* 17: 97.
- Hlodversson, R. (1987b) *Swed. J. Agric. Res.* 17: 245.
- Huisman, J. y Van der Poel, A.F.B. (1989) En: *Recent Advances Research on ANF in Legume Seeds*. Pudoc. Wageningen, Holanda. pp: 317.
- Huisman, J. et al., (1991) En: *Fifth Int. Symp. Digestive Physiology in Pigs*. EAAP Pub. pp: 108.
- Huisman, J. y Le Guen, M.R. (1991) En: *Proc. Fifth Int. Symp. on Digestive Physiology in Pigs*. Wageningen, Holanda. pp:60.
- Huisman, J. et al., (1992) En: *Recent Advances in Animal Nutrition*. Butterworths-Heinemann. pp: 3.
- Hurrell, R.F. (1976) *Br. J. Nutr.* 35: 383.
- Huyghebaert et al., (1978) *Rev. Agric.* 31: 675.
- INRA, (1989) En: *L'alimentation des animaux monogastriques: porc, lupin, volailles*. INRA. pp: 282.
- Ivan, M. y Bowland, J.P. (1976) *Can. J. Anim. Sci.* 56: 451.
- Ivanko, S. et al., (1991) En: *Proc. Sixth Int. Symp. on Protein Metabolism and Nutrition*. Herning. Dinamarca. pp: 213.
- Jaffé, W.G. (1980) En: *Toxic Constituents of Plant Foodstuffs*. Academic Press. pp: 102.
- Jansman, A.J.M. et al., (1989). En: *Recent Advances Research on ANF in Legume Seeds*. Pudoc. Wageningen, Holanda. pp: 176.
- Jansman, A.J.M. et al., (1991) En: *Proc. Sixth Symp. on Protein Metabolism and Nutrition*. Herning, Dinamarca. pp: 216.
- Jansman, A.J.M. et al., (1993) *Anim. Feed Sci. Tech.* 42: 83.
- Jondreville, C. et al. (1992) En: *First European Conf. Grain Legumes*. Angers, France. pp: 485.
- King, T.P. et al., (1983) *J. Sci. Food Agric.* 34: 1404.
- Lacassagne, L. et al., (1988) *Anim. Feed Sci. Tech.* 30: 59.
- Lacassagne, L. et al., (1991) *Anim. Feed Sci. Tech.* 34: 11.
- Leterme, P. y Beckers, L. (1989) *Rev. Agric.* 42: 469.
- Leterme, P. et al., (1990a) *Anim. Feed Sci. Tech.* 29: 45.
- Leterme, P. et al., (1990b) *J. Sci. Food Agric.* 52: 485.
- Liebert, F. y Gebhardt, G. (1983) *Arch. Tierernahr.* 33: 47.
- Liener, I.E. (1986) En: *The lectins: Properties, Functions and Applications in Biology and Medicine*. Academic Press. pp: 527.
- Longstaff, M.A. y McNab, J.M. (1987) *Br. Poult. Sci.* 28: 261.
- Longstaff, M.A. y McNab, J.M. (1991) *Anim. Feed Sci. Tech.* 34: 147.

- Lund, S. y Hakansson, J. (1986) *Anim. Feed Sci. Tech.* 16:119.
- Marquardt, R.R. et al., (1974) *Can. J. Anim. Sci.* 54: 177.
- Marquardt, R.R. et al., (1976) *J. Nutr.* 106: 275.
- Marquardt, R.R. (1989) En: *Recent Advances Research on ANF in Legume Seeds*. Pudoc. Wageningen, Holanda. pp: 141.
- Maillard, R. et al., (1990) *Journées Rech. Porcine* 22: 223.
- Marlier, L. et al., (1989) *Ann. Zootech.* 38: 237.
- Martín Tanguy, J. et al., (1977) *J. Sci. Food Agric.* 28: 757.
- McMeniman, N.P. y Armstrong, D.G. (1979) *J. Agric. Sci.* 93: 181.
- McNab, J.M. y Wilson, B.J. (1974) *J. Sci. Food Agric.* 25: 395.
- Mitaru, B.N. et al., (1986) *J. Nutr.* 114: 1787.
- Molina, E. et al., (1983) *Archiv. Zootec.* 32: 295.
- Moran, E.T. et al., (1968) *Can. J. Anim. Sci.* 48: 47.
- Mosse, J. (1987) *Sci. Aliments* 7: 301.
- Mosse, J. (1990) *Prod. Anim.* 3: 103.
- Myer, R.O. (1982). *Poultry Sci.* 61: 2117.
- Myer, R.O. y Froseth, J.A. (1983) *J. Anim. Sci.* 56: 1088.
- Myer, R.O. y Froseth, J.A. (1989) En: *Recent Advances Research on ANF in Legume Seeds*. Pudoc. Wageningen, Holanda. pp: 254.
- Nakata, S. y Kimura, T. (1985) *J. Nutr.* 115: 1621.
- Nielsen, S.S. et al., (1988) *J. Agric. Food Chem.* 36: 896.
- Pérez, J.M. y Bourdon, D. (1992) En: *First European Conf. on Grain Legumes*. Angers, Francia. pp: 489.
- Pond, W.G. y Maner, J.H. (1984) AVI Publishing Co. Westport, CT. pp: 474.
- Pritchard, P.J. et al., (1973) *J. Sci. Food. Agric.* 24: 663.
- Pusztai, A. (1989) En: *Recent Advances Research on ANF in Legume Seeds*. Pudoc. Wageningen, Holanda. pp: 17.
- Roblee, A.R. (1977) *Can. J. Anim. Sci.* 57: 421.
- Rodriguez, M. y Bayley, L. (1987) *Can. J. Anim. Sci.* 67: 803.
- Romero, J. y Ryan, D.S. (1978) *J. Agric. Food Chem.* 26: 784.
- Rubio, L.A. et al., (1990) *Br. J. Nutr.* 63: 419.
- Saini, H.S. (1989) En: *Recent Advances Research on ANF in Legume Seeds*. Pudoc. Wageningen, Holanda. pp: 329.
- Salunkhe, D.K. et al., (1990) En: *Dietary Tannins: Consequences and Remedies*. CRC Press.
- Satter, L.D. (1986) *J. Dairy Sci.* 69: 2734.
- Savelkoul, F.H.M.G. et al., (1991) *Proc. 41th Annual Meeting EAAP*. Toulouse, Francia.
- Sève, B. et al., (1985) *Sci. Aliments* 5: 119.
- Sharma, H.R. y Nicholson, W.G. (1975) *Can. J. Anim. Sci.* 55: 705.
- Simpson, J. (1980) En: *The Faba Bean*. Butterworths. pp: 535.
- Sissons, J.W. (1982) *Proc. Nutr. Soc.* 41: 53.
- Sissons, J.W. et al., (1982) *J. Sci. Food Agric.* 33: 706.
- Sissons, J.W. (1989). En: *Advances Animal Nutrition*. Butterworths. pp: 261.
- Sugimoto, Y. (1980) *J. Jap. Starch Sci.* 27: 28.
- Thewis, A. et al., (1992) En: *First European Conf. on Grain Legumes*. Angers, Francia. pp: 503.
- Tolman, G.H. (1991). En: *Toxic Constituents of Plant Foodstuffs*. Academic Press. pp: 241.
- Totsuka, K. et al., (1977) *Jap. Poult. Sci.* 14: 109.
- Toullec, R. y Guilloteau, P. (1989) En: *Nutrition and Digestive Physiology in Monogastric Farm Animals*. Pudoc. pp: 37.
- VanBarneveld, R.J. et al., (1991) En: *Manipulating Pig Production III*. Austral. Pig Sci. Ass. pp: 184.
- Valdebouze, P. et al., (1980) *Can. J. Plant Sci.* 60: 695.

- Valdebouze, P. y Gaborit, T. (1985) *Rev. Alim. Anim.* pp: 45.
- Van der Poel, A.F.B. (1989) En: *Recent Advances Research on ANF in Legumes Seeds*. Pudoc. Wageningen, Holanda. pp: 213.
- Van der Poel, A.F.B. (1990) *Anim. Feed Sci. Tech.* 29: 179.
- Van der Poel, A.F.B. et al., (1991) En: *Proc. Fifth Int. Symp. on Digestive Physiology in Pigs*. Wageningen, Holanda. pp:50.
- Van der Poel, A.F.B. et al., (1992) *Anim. Feed Sci. Techn.* 33:205.
- Van Zuilichem, D.J. y Van der Poel, A.F.B. (1989) En: *Recent Advances Research on ANF in Legume Seeds*. Pudoc. Wageningen, Holanda. pp: 263.
- Watkins, B.A. y Mirosh, L.W. (1987) *Poultry Sci.* 66: 1798.
- Watkins, B.A. et al., (1988) *Nutr. Rep. Int.* 38: 173.
- Welch, R.W. y Griffiths, D.W. (1984) *J. Sci. Food Agric.* 35: 1282.
- Wiseman, J. y Cole, D.J.A. (1988) En: *Recent Advances Animal Nutrition*. Butterworths. pp: 13.
- Yuste, P. et al., (1991) *Anim. Feed Sci. Tech.* 35: 289.

FEDNA