

**COMPOSICION QUIMICA, CONTENIDO DE AMINOACIDOS
Y VALOR NUTRITIVO DE LA PROTEINA DE SEMILLA
DE ACHIOTE (*Bixa orellana*, L.)**

*Ricardo Bressani*¹, *Florida Porta-España de Barneón*²,
*J. Edgar Brabam*¹, *Luiz G. Elías*¹ y *Roberto Gómez-Brenes*¹

**Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP),
Guatemala, Guatemala, C. A.**

RESUMEN

En diversas ocasiones, los Ministerios de Agricultura de varios países latinoamericanos se han referido al potencial económico que representa la explotación industrial del pigmento de la *Bixa orellana*, L, la cual se utiliza como colorante natural en la industria alimenticia.

La producción del pigmento dejaría como residuo la semilla que —al ser bien identificada química y nutricionalmente— podría contribuir a que la explotación del achiote fuese más rentable. El propósito principal de este trabajo fue el de obtener información sobre estos aspectos.

Los resultados de análisis químicos de la semilla revelaron que ésta contiene cantidades intermedias de proteína, cifras que variaron entre 13 y 16%. Los niveles de fibra cruda también son relativamente altos, alrededor

Manuscrito modificado recibido: 12-3-82.

- 1 Jefe, y Científicos de la División de Ciencias Agrícolas y de Alimentos del INCAP.
- 2 Estudiante de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala, en estudios tutoriales en la misma División.

Publicación INCAP E-1110.

de 16^o/o; sin embargo, más del 50^o/o de esta fibra puede ser reducida al tamizar la harina de la semilla. Esta operación eleva la proteína, al mismo tiempo que elimina la fibra cruda.

La semilla de achiote es rica en fósforo, pero pobre en calcio. En cuanto a la proteína, parece contener niveles adecuados de triptofano y lisina, pero reducidos de metionina, isoleucina, leucina, fenilalanina y treonina. La calidad de la proteína de la harina de semilla de achiote es de cerca del 65^o/o del valor de la caseína, proteína usada como referencia.

Es probable que parte de este valor proteínico reducido se deba a las deficiencias de aminoácidos, principalmente de metionina, así como a la digestibilidad de la proteína. Esta fue de 57^o/o en comparación con 94^o/o para la caseína, lo que puede atribuirse a la fibra cruda de la semilla del achiote, ya que cuando ésta se eliminó parcialmente, se tradujo en un aumento en digestibilidad hasta del 65^o/o.

Estudios posteriores deberán confirmar las deficiencias de aminoácidos de la proteína del achiote y la digestibilidad de su proteína, a fin de hacer un uso más efectivo de esta fuente potencial de alimento animal, en combinación con otros alimentos.

INTRODUCCION

Un aspecto que ha sido objeto de poca consideración en la mayoría de los países latinoamericanos es el conocimiento químico de los recursos naturales que existen en el área. Ello es esencial para contar con bases de juicio y de más sólido fundamento, para promulgar su cultivo y explotación. Lo que es más, este conocimiento permitiría hacer uso más efectivo de tales recursos, ya sea como materia prima industrial, o como fuente de nutrientes para la población humana y para los animales de la región.

Uno de estos recursos lo constituye precisamente las semillas del achiote (*Bixa orellana*, L.) (1), las cuales están cubiertas por pigmentos de colores anaranjados o rojos, lo que permite usarlas como colorantes en la industria alimenticia (por ejemplo, en la fabricación de quesos) o en la industria avícola (para dar color a la yema del huevo).

A simple vista, el fruto del achiote presenta el aspecto de una cápsula de dos segmentos, a pesar de que ocasionalmente los árboles producen cápsulas de tres segmentos. Algunas variedades tienen la parte externa del fruto recubierta con muchos agujones, y otras la tienen completamente lisa, conteniendo de 30 a 60 semillas por fruto. Estas semillas están recubiertas por una pulpa

rojiza y cerosa que constituye el pigmento.

La composición y estructura química de estos pigmentos han sido sometidas a estudios bastante amplios, siendo la Bixina y la Orelina los pigmentos más abundantes (2). Varios estudios han subrayado la alta actividad de vitamina A de los pigmentos del achiote (3-6), pero poco se sabe acerca de la composición química de la semilla. Algunos informes de análisis químicos indican un contenido de alrededor de 15% de proteína y cantidades similares de fibra cruda (14-15%). El contenido proteínico es significativo y sugiere que podría utilizarse como fuente de este nutriente en raciones para animales, o si se obtiene sin los componentes no utilizables como la fibra cruda, para propósitos de nutrición humana. Su uso con este último objetivo sería factible si la semilla no contuviese sustancias tóxicas, hecho por ahora no reconocido, pero que en el trabajo aquí descrito se intenta esclarecer.

Son muy pocos los estudios en la literatura relativos a la posibilidad de usar la semilla remanente después de la extracción de los pigmentos. Squibb, Guzmán y Scrimshaw (4) en su artículo, señalaron que la semilla del achiote es una fuente rica en carbohidratos, pero no hicieron mención de su contenido proteínico. Luego, Squibb, Méndez y Scrimshaw (7) informaron que la harina de la semilla de achiote podía substituir del 30 al 50% de la harina de maíz en una dieta para pollos de carne. Al substituir todo el maíz, observaron, sin embargo, una depresión en el crecimiento de los polluelos.

MATERIALES Y METODOS

Muestras y Recolección

Las muestras utilizadas en el presente estudio están constituidas por las semillas del fruto de la planta llamada achiote y fueron obtenidas de diversas regiones de la República de Guatemala (Huehuetenango, Palín, Escuintla, Retalhuleu, Mazatenango y Chiquimula).

Se formaron lotes de 10 frutos de las variedades a investigar, comúnmente cultivadas, y se pesó individualmente cada lote para calcular su peso promedio. Luego se les quitó la cáscara y con la semilla se hizo la misma operación a fin de determinar el porcentaje de semillas por fruto. Para calcular el porcentaje del pigmento en peso, en relación con la semilla, se tomaron 100 g de semillas, se

lavaron con agua caliente para despigmentarlas, se secaron y por último se pesaron. El promedio de su tamaño se obtuvo midiendo tanto el fruto como las semillas. Luego se procedió al muestreo de cada fracción del fruto, tomando en cuenta la variedad para el análisis químico.

Preparación del Material

Las semillas fueron utilizadas en dos formas: pigmentadas y despigmentadas. A aquéllas que se usaron sin pigmento, éste se les extrajo como sigue: se construyó en el laboratorio un aparato que básicamente consta de un recipiente cilíndrico de metal, en el que se introducen las semillas hasta la mitad de la capacidad del recipiente; después se les agrega agua hasta una cantidad de $1/2$ a $3/4$ del volumen total de las semillas (preferentemente caliente, y de ser posible se mantiene esta temperatura para aumentar la solubilidad). El interior del recipiente tiene una hélice accionada por un motor eléctrico, que es el que produce la agitación necesaria para desprender el pigmento de la semilla (la velocidad del motor es controlable). Después de 4 – 6 horas de agitación, está del todo depigmentada una cantidad aproximada de 2 kilos de semillas. El pigmento se recupera por decantación y evaporación hasta dejar el colorante de una consistencia pastosa y se moldea en la forma deseada; una vez seco, está listo para el mercado.

Todo el material utilizado para el análisis químico proximal y para el análisis de aminoácidos se convirtió en harina en un micromolino Wiley, a un grueso de 20 mallas. Se obtuvieron así las muestras que aquí denominamos harina completa depigmentada. Parte de esta última harina se pasó a través de un tamiz de 80 mallas con el objeto de eliminar la cáscara de la semilla. Este material dio origen a la muestra denominada harina depigmentada y tamizada. El material utilizado en los ensayos biológicos, aproximadamente unos 60 kilos de semillas, se pasó también a través de un molino de martillos para convertirlo en harina. El material se guardó en forma de harina, en frascos de vidrio, y a temperatura ambiente.

Análisis Químico

Para determinar su contenido de humedad, grasa, fibra cruda, ceniza y calcio, se usaron los métodos de la AOAC (8). El contenido de fósforo fue establecido por el método de Fiske y

Subbarow (9). La cantidad de hierro fue estimada por el método de Moss y Mellon (10), y el nitrógeno se analizó según la técnica de Hamilton y Simpson (11).

Análisis de Aminoácidos

Se determinó el contenido de aminoácidos esenciales de las harinas de achiote depigmentadas, pigmentadas, molidas y tamizadas, utilizando para ello métodos microbiológicos (12). En las determinaciones de lisina, leucina, isoleucina, metionina, fenilalanina, valina, histidina y arginina se usó *Leuconostoc mesenteroides* P-60 y medio sintético Difco; para el contenido de treonina, *Streptococcus faecalis* 2228 y medio sintético Difco. En las determinaciones anteriores se usaron hidrolizados ácidos y en el caso del triptofano, el hidrolizado fue en medio alcalino, usándose *Lactobacillus arabinosus* 17-5 y medio sintético Difco.

Ensayos Biológicos

Evaluación de la calidad proteínica

El valor nutritivo de las harinas de achiote se determinó sometiéndolas a varios ensayos en ratas jóvenes en proceso de crecimiento, los cuales se desarrollaron en tres etapas sucesivas con una duración de 28 días cada una. En todos los ensayos se emplearon ratas Wistar de tres semanas de edad, de la colonia animal del INCAP, asignándose cuatro hembras y cuatro machos a cada dieta. En el primer ensayo, consistente de tres dietas descritas en la Tabla 1, la harina de semilla de achiote sin pigmento y la harina de semilla de achiote sin pigmento y tamizada fueron incorporadas a la dieta en una cantidad equivalente al 10⁰/o de proteína, usando una dieta de caseína como referencia. Los animales se alojaron en jaulas individuales de alambre, con fondo levadizo de tela metálica, suministrándoles *ad libitum* tanto el agua como la ración durante todo el tiempo que duró el experimento. Los animales se pesaron cada siete días, anotándose el aumento de peso y llevando también un registro del peso del alimento consumido en ese período, con miras a determinar el índice de eficiencia proteínica. Todas las dietas fueron analizadas por su contenido de nitrógeno usando el método de la AOAC (8) modificado por Hamilton y Simpson (11).

TABLA 1

COMPOSICION DE LAS DIETAS USADAS EN EL PRIMER ENSAYO BIOLÓGICO*

Ingredientes	Dietas.		
	1	2	3
Harina completa de achiote sin pigmento	71.43	—	—
Harina de achiote sin pigmento y tamizada a 80 mallas	—	60.50	—
Caseína libre de vitaminas	—	—	11.20
Minerales**	4.00	4.00	4.00
Aceite de soya	5.00	5.00	5.00
Aceite de hígado de bacalao	1.00	1.00	1.00
Almidón de maíz	18.57	29.50	78.80
Total	100.00	100.00	100.00
Solución de vitaminas***	5 ml	5 ml	5 ml

* Las dietas con un contenido proteínico de 100/o tenían la misma composición; la proteína se elevó al nivel deseado a expensas del almidón.

** Hegsted y colaboradores (15).

*** Manna y Hauge (16).

Estudios de suplementación con aminoácidos

Con base en los datos del contenido de aminoácidos esenciales determinado en la proteína de la semilla, y los requerimientos de la rata, se hicieron estudios de suplementación con los aminoácidos metionina, lisina y triptofano, los cuales se incorporaron a las dietas descritas en las Tablas 2 y 3. El objetivo fue el de confirmar posibles deficiencias de éstos en la proteína de las harinas de semilla de achiote. El manejo de los animales y otros detalles de estos experimentos fueron similares a los descritos en el párrafo anterior.

TABLA 3
COMPOSICION DE LAS DIETAS USADAS EN EL TERCER ENSAYO BIOLOGICO

Ingredientes	Dietas						
	1	2	3	4	5	6	7
Harina completa molida sin pigmento	71.43	71.43	71.43	71.43	71.43	71.43	—
Caseína (libre de vitaminas)	—	—	—	—	—	—	11.20
L-metionina	—	0.10	0.20	0.30	0.20	0.20	—
L-triptofano	—	—	—	—	0.025	0.025	—
L-lisina HCl	—	—	—	—	—	0.20	—
Minerales	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
Aceite de soya	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
Aceite de hígado de bacalao	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Almidón de maíz	18.57	18.47	18.37	18.27	18.345	18.145	78.80
Total	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
Solución de vitaminas	5 ml	5 ml	5 ml	5 ml	5 ml	5 ml	5 ml

Ensayos de digestibilidad de la proteína

Para llevar a cabo estos ensayos se emplearon las mismas ratas y dietas utilizadas en el primer ensayo biológico (Tabla 1). El estudio se efectuó en un período de 10 días divididos en dos etapas, y al final de cada etapa se pesaron las ratas. Las dietas de semilla de achiote que se usaron durante la primera etapa del ensayo se mezclaron con carbón activado y la dieta control de caseína se coloreó con carmín, para determinar con exactitud las heces iniciales de este ensayo. La cantidad de alimentos suministrada fue de 80 g en la primera etapa y de 120 g en la segunda; el agua se proporcionó *ad libitum*. Se recolectaron las heces en forma separada durante cada etapa del ensayo, se deshidrataron, se pesaron y luego se molieron finamente; después fueron tamizadas para eliminar el pelo de los animales. Luego, las heces preparadas en esta forma fueron analizadas para determinar su contenido de nitrógeno (8). Previamente se había establecido el nitrógeno en las dietas utilizando en ambos casos el método de Hamilton y Simpson (11). Con estos datos disponibles, se determinó la digestibilidad aparente.

RESULTADOS

Aspectos Físicoanatómicos del Fruto

Los pormenores respecto a este rubro se exponen en la Tabla 4. Según se aprecia, los resultados obtenidos al sacar el promedio del peso de los frutos agrupados en lotes de 10, indican que la semilla representa entre el 50 y el 57% del peso total del fruto, habiéndose encontrado de 40 a 60 semillas por fruto. Su cápsula mide, en promedio, 3 cm de ancho por 4 cm de largo, y la semilla, de 4 a 6 mm. El color del pigmento en las diferentes muestras fue de anaranjado a rojo, siendo el contenido del pigmento de 4 a 50% del peso de la semilla.

Análisis Químico

El análisis proximal de las harinas completas depigmentadas, de la harina tamizada y depigmentada, del residuo del tamizaje, de la harina completa y pigmentada, de la pasta comercial de pigmento y de la cáscara molida del fruto, se presenta en la Tabla 5.

TABLA 4
RENDIMIENTO Y CARACTERISTICAS DEL FRUTO
Y DE LA SEMILLA DE ACHIOTE

Peso fruta entera*		Peso cáscara	Peso semilla	Semilla, % del peso del fruto
No.	g	g	g	
1	20	10	10	50.0
2	16	8	8	50.0
3	16	7	9	56.2
4	17	8	9	52.9
5	14	6	8	57.1
Tamaño promedio de la cápsula en cm			3.0 x 4.0	
Promedio de semilla, por cápsula			40 a 60	
Color del pigmento			anaranjado a rojo	
Tamaño de la semilla, en mm			4 a 6	
Porcentaje de pigmentos en peso en relación a la semilla, %			4 a 5	

* Los frutos se pesaron en lotes de 10.

El contenido de proteína de las harinas completas, con pigmento y sin pigmento, osciló entre un valor mínimo de 13.7% y uno máximo de 15.6%, y el contenido de fibra cruda acusó un porcentaje mínimo de 15.8 y uno máximo de 16.3. En ambos casos, las diferencias observadas entre las diversas harinas fueron pequeñas, aun en el caso de las semillas depigmentadas con solventes orgánicos. En cuanto a la harina depigmentada y tamizada para eliminar la cáscara, el contenido de proteína ascendió a 16.5% y el de fibra cruda se redujo a 8.7%. Se puede apreciar además, en la Tabla 5, que el contenido de hierro, calcio, fósforo, humedad, grasa y cenizas fue bastante similar en todas las muestras representativas de las harinas estudiadas. Es de interés subrayar que la pasta comercial de venta en Guatemala es impura, ya que contiene 12.4% de proteína. La cáscara del fruto es alta en fibra cruda, lo cual era de esperar.

TABLA 5

ANALISIS QUIMICO PROXIMAL DE LAS DIVERSAS SEMILLAS DE ACHIOTE ESTUDIADAS

No.	Muestra	Humedad %o	Grasa %o	Fibra cruda %o	Proteína %o (N x 6.25)	Cenizas %o	Calcio mg/100 g	Fósforo mg/100 g	Hierro mg/100 g
1	Región Huehuetenango	9.6	2.5	15.8	14.2	4.7	97	327	5.6
2	Región Palín-Escuintla	9.7	1.9	16.1	13.7	4.5	164	282	5.4
3	Región Retalhuleu	8.7	2.4	16.3	15.6	4.9	110	291	5.0
4	Región Mazatenango	10.8	2.5	16.1	14.8	4.5	104	349	4.2
5	Región Chiquimula	7.1	1.5	16.2	14.0	4.5	113	287	5.4
6	Región Chiquimula (semilla entera con pigmento)	7.3	4.3	16.3	14.5	4.9	111	278	5.5
7	Región Chiquimula (pigmento-pasta comercial)	14.4	26.5	2.8	12.4	8.9	—	—	—
8	Región Chiquimula (cáscara del fruto)	12.7	2.4	40.1	7.1	5.5	238	89	28.2
9	Región Retalhuleu (harina depigmen- tada y tamizada a 80 mallas)	10.3	5.12	8.7	16.5	4.9	—	—	—
10	Residuo del tamizaje	10.2	1.46	18.5	12.3	4.8	—	—	—

Datos expresados en 100 g de muestra.

Análisis de Aminoácidos

El análisis de aminoácidos de las harinas de achiote se da a conocer en la Tabla 6, observándose que el contenido de nitrógeno en estas muestras osciló entre 2.40 y 2.52%. El contenido de aminoácidos está expresado en gramos de aminoácidos/100 g de muestra y en g/g de nitrógeno, con pequeñas diferencias entre las diversas harinas preparadas. En la misma Tabla figura la comparación, en términos de porcentaje, con los aminoácidos de la leche, de donde se deduce fácilmente cuáles son los aminoácidos en los que las harinas de achiote son deficientes. Dicha comparación revela que la proteína de la semilla del achiote es deficiente en los aminoácidos triptofano, metionina, leucina, fenilalanina e isoleucina.

Ensayos Biológicos

Los resultados de estos ensayos están enfocados hacia dos aspectos: las harinas de achiote sin suplementar, y las harinas suplementadas. Los hallazgos, en el caso de las harinas sin suplementar que constituyeron la primera fase de los ensayos biológicos— figuran en la Tabla 7. Se logró establecer que la dieta con la harina completa, sin pigmento, fue la que produjo mayores aumentos de peso, aunque menores a los obtenidos con caseína. La harina tamizada, a pesar de que produjo un menor incremento ponderal, acusó un índice de eficiencia proteínica de 1.85, valor semejante al de la semilla molida sin pigmento, que fue de 1.87. La caseína en este estudio dio un índice de 2.89.

En el segundo ensayo, cuyos resultados se detallan en la Tabla 8, se pueden apreciar algunos datos de interés. Primero, al comparar la respuesta de las harinas, con y sin pigmento, se nota que aquéllas con pigmento indujeron un menor aumento de peso y menor índice de eficiencia proteínica que la harina sin pigmento. Más aún, la harina con pigmento causó una mortalidad del 25% (dos de ocho animales), no así la otra. La adición de lisina no indujo ningún cambio de peso o de eficiencia proteínica en contraste con la dieta no suplementada con este aminoácido. Lo contrario pudo observarse al adicionar metionina, ya fuese sola o en presencia de lisina. En estos casos, el peso de los animales a los 28 días fue mayor, y lo mismo ocurrió con el índice de eficiencia proteínica, aun cuando las diferencias no son estadísticamente significativas. De interés es también el hecho de que el residuo del tamizaje

TABLA 6

CONTENIDO DE AMINOACIDOS Y DE NITROGENO EN LAS HARINAS DE ACHIOTE

Aminoácidos	Leche g/g N	H. completa s/pigmen.		H. tamizada s/pigmen.		H. completa c/pigmen.		H. completa s/pigmen.*		Puntaje químico promedio %
		g/100g	g/gN	g/100g	g/gN	g/100g	g/gN	g/100g	g/gN	
Nitrógeno	—	2.49	—	2.52	—	2.45	—	2.40	—	—
Triptofano	0.090	0.165	0.066	0.134	0.053	0.168	0.069	0.142	0.060	69
Lisina	0.496	1.013	0.407	1.042	0.413	1.425	0.425	1.100	0.458	86
Metionina	0.156	0.134	0.054	0.151	0.069	0.128	0.052	0.166	0.069	37
Fenilalanina	0.309	0.462	0.186	0.465	0.185	0.456	0.186	0.451	0.188	60
Leucina	0.626	0.634	0.255	0.634	0.252	0.651	0.266	0.814	0.339	44
Isoleucina	0.407	0.587	0.236	0.638	0.253	0.591	0.241	0.593	0.247	60
Treonina	0.294	0.436	0.175	0.733	0.291	0.733	0.291	0.760	0.317	91
Arginina	0.233	1.426	0.573	—	—	—	—	—	—	246
Histidina	0.168	0.393	0.158	0.362	0.147	0.370	0.151	0.370	0.151	90
Valina	0.438	—	—	—	—	0.762	0.311	0.773	0.322	72

* Esta muestra se formo con una mezcla de las variedades de harinas de achiote.

— No fue determinado.

TABLA 7

CRECIMIENTO E INDICE DE EFICIENCIA PROTEINICA DE LAS RATAS ALIMENTADAS CON DIETAS A BASE DE HARINAS DE ACHIOTE DEPIGMENTADAS COMPLETAS Y DEPIGMENTADAS TAMIZADAS

Dietas	% de proteína en dieta	Aumento promedio en peso g	Alimento consumido g	Proteína consumida g	Índice de eficiencia proteínica
Harina completa de achiote s/pigmento	10.2	77	403	41.2	1.87
Harina de achiote s/pigmento y tamizada a 80 mallas	10.2	48	252	25.7	1.85
Caseína (usada como control)	10.3	118	395	40.8	2.89

Número de animales por grupo: 8 (4 hembras y 4 machos). Peso promedio inicial: 45 g. Duración del experimento: 28 días.

indujo un mejor crecimiento que el de la harina tamizada (Tabla 8), así como un mayor índice proteínico.

En la Tabla 9 se resumen los resultados correspondientes al tercer ensayo biológico. Los datos indican que es necesario agregar 0.30% de L-metionina para obtener mejor peso y mayor utilización proteínica. Los datos también demuestran que estos parámetros no mejoraron al agregarse junto con metionina, triptofano y lisina.

Finalmente, la digestibilidad aparente de la harina de la semilla del achiote es de 57%, y aumentó a 65% al tamizar la harina de la semilla, eliminando así un poco de cáscara. La digestibilidad de la caseína fue de 94%.

DISCUSION

La semilla del achiote ha sido utilizada desde hace algún tiempo como fuente de sustancias colorantes en la industria de alimentos tales como la del queso (2), para la coloración de la yema del huevo de gallina, y como colorante en el ahumado de pescado (13), así como en la elaboración de margarinas (13). En Guatemala, la pasta de achiote es también muy utilizada como colorante en la preparación de ciertos alimentos típicos, por ejemplo, los tamales, el tiste y otros.

Los usos que se le pueden dar a la semilla dependen de su composición química, y su posible utilización sería como alimento para la industria animal. En este sentido se ha hecho muy poco. Squibb, Guzmán y Scrimshaw (4) señalaron que la semilla del achiote contenía niveles altos de carbohidratos, y postularon la posibilidad de que pudiera reemplazar al maíz en dietas para pollos. Posteriormente, en otro estudio, Squibb, Méndez y Scrimshaw (7) concluyeron que, en efecto, la harina de semilla de achiote puede reemplazar entre el 30 y el 50% del maíz en la dieta. No obstante, el peso final de los pollos fue menor conforme el nivel de harina de la semilla de achiote se incrementaba en la dieta. Los autores, sin embargo, no dieron ninguna explicación a este efecto. Los hallazgos del presente estudio podrían explicar los datos obtenidos por dichos investigadores (7).

En primer lugar, los análisis de composición química de la semilla de achiote indican que es un material de alto contenido en carbohidratos, pero no al grado en que lo es el maíz. La semilla de achiote, ya sin el pigmento, contiene un menor nivel de carbohi-

TABLA 8

CRECIMIENTO DE INDICE DE EFICIENCIA PROTEINICA DE LAS RATAS ALIMENTADAS CON LA DIETA A BASE DE HARINA DE ACHIOTE COMPLETA Y CON PIGMENTO Y EL EFECTO DE LA SUPLEMENTACION CON METIONINA Y LISINA EN LAS DIETAS A BASE DE HARINAS DE ACHIOTE COMPLETAS Y DEPIGMENTADAS

Dietas	% de proteína en dietas	Aumento promedio en peso g	Alimento consumido g	Proteína consumida g	Indice de eficiencia proteínica
Harina completa molida c/pigmento	10.3	21	181	18.7	1.08
Harina completa molida s/pigmento	10.9	89	395	44.6	1.99
Harina completa s/pigmento y L-lisina HCl 0.25%	10.8	86	402	43.3	1.97
Harina completa s/pigmento y L-metionina 0.20%	11.0	100	435	47.7	2.10
Harina completa s/pigmento y L-lisina HCl 0.25% + L-metionina 0.20%	10.9	92	425	46.3	2.00
Residuo del tamizaje de harina s/pigmento	9.5	68	360	34.0	1.99
Caseína	10.9	128	384	41.7	3.07

Número de animales por grupo: 8 (4 hembras y 4 machos). Peso promedio inicial: 45 g. Duración del experimento: 28 días. Dos ratas de ocho murieron en el grupo alimentado con la harina completa con pigmento.

TABLA 9
EFFECTO DE LA SUPLEMENTACION CON METIONINA, LISINA Y TRIPTOFANO SOBRE EL CRECIMIENTO
E INDICE DE EFICIENCIA PROTEINICA DE LAS RATAS ALIMENTADAS CON DIETAS A BASE DE
HARINAS DE ACHIOTE COMPLETAS Y DEPIGMENTADAS

Dietas	% de proteína en dietas	Aumento pro- medio en peso g	Alimento consumido g	Proteína consumida g	Indice de eficiencia proteínica
Harina completa s/pigmento	10.3	71	378	38.8	1.81
Harina completa s/pigmento y 0.10% L-metionina	10.3	81	414	42.6	1.88
Harina completa s/pigmento y 0.20% L-metionina	10.3	71	386	39.8	1.80
Harina completa s/pigmento y 0.30% L-metionina	10.2	84	409	41.8	2.00
Harina completa, s/pigmento 0.20% L-metionina y 0.25% triptofano	10.5	69	362	38.1	1.80
Harina completa, s/pigmento 0.20% L-metionina, 0.20% L-lisina HCl + 0.025% triptofano	10.4	80	399	41.3	1.91
Caseína	10.8	125	420	45.5	2.74

Número de animales por grupo: 8 (4 hembras y 4 machos). Peso promedio inicial: 45 g. Duración del experimento: 28 días.

hidratos solubles que el maíz por dos razones importantes. La primera la constituye el contenido de proteína, que para el achiote es de 12-16% en comparación con el del maíz, que es de 8-10%. La segunda razón es el contenido de fibra cruda, que para la harina de semilla de achiote es de 16%, mientras que el del maíz es de 4 a 5%. Sobre estas bases se puede deducir que en los estudios de Squibb, Méndez y Scrimshaw (7), al substituir el maíz por la harina de achiote, se estaba aumentando el nivel de fibra cruda en la dieta y, al mismo tiempo se reducía la cantidad de calorías. A pesar de que había un incremento en proteína, por contener la harina de achiote más que el maíz, ese aumento no compensó la pérdida en concentración energética.

No obstante, la cantidad de fibra cruda puede reducirse fácilmente en un 50% por medio de un simple cernido, lo cual resultaría también en un incremento en el contenido proteínico como los resultados del presente trabajo lo demuestran. En lo que a la composición química de la semilla de achiote se refiere, cabe señalar que es una fuente relativamente buena de fósforo, aunque baja en calcio.

Ya que el contenido de proteína es relativamente alto y puede incrementarse eliminando la cáscara, en este estudio se le prestó especial atención a la proteína. El contenido de aminoácidos esenciales revela algunos puntos de interés. En primer lugar, la proteína contiene niveles de lisina tan altos como los de la proteína de soya (14). No obstante, la cantidad de triptofano y metionina es muy baja: tan baja en triptofano como la del maíz (14), y en metionina como en la del frijol (14). Estos datos sugieren, por consiguiente, que éstos son los aminoácidos limitantes de la calidad nutritiva de la proteína. Se encontraron otros aminoácidos esenciales en niveles bajos, pero sería necesario confirmar esta información mediante nuevos estudios. Los valores de aminoácidos en la proteína del achiote, según este estudio, también podrían explicar la razón por la que Squibb, Méndez y Scrimshaw (7) encontraron menor crecimiento en los pollos al substituir el maíz por la harina de achiote. Las fuentes de proteína usadas por dichos investigadores fueron: harinas de ajonjolí, de corozo y de algodón, que son deficientes en los aminoácidos lisina (15), y metionina (15), respectivamente. Además, el maíz es bajo en lisina y triptofano. Por consiguiente, al usar harina de achiote los niveles de metionina en la dieta posiblemente eran inferiores a los requeridos por el pollo en crecimiento rápido.

Los datos biológicos de nuestro trabajo confirman en parte

las deficiencias del aminoácido en la proteína de la semilla de achiote, ya que la adición de lisina —que contiene en buena cantidad la proteína del achiote— no se tradujo en ninguna mejoría de su calidad proteínica. Esto, sin embargo, no se puede decir del triptofano, hecho sugerente de que el valor analítico no es el correcto. Estudios posteriores deberán confirmar estos hallazgos.

Por último, fue sorprendente observar la digestibilidad aparente reducida de la proteína de la semilla del achiote, con valores parecidos a los del frijol. Esto podría explicar la respuesta reducida que se obtuvo al agregarle aminoácidos, por lo que se sugiere que estos datos sean investigados más a fondo.

SUMMARY

CHEMICAL COMPOSITION, AMINO ACID CONTENT AND NUTRITIVE VALUE OF THE PROTEIN OF ANNATTO SEED (*Bixa orellana*, L.)

On several occasions, many Latin American countries have shown interest in the economic potential of industrializing the exploitation of the pigment in Annatto seed (*Bixa orellana*, L) used as a natural coloring agent in the food industry. Production of the pigment leaves the seed as a by-product, which once characterized chemically and nutritionally, could contribute to a more profitable exploitation of Annatto seed. The main objective of the present study was to obtain information in regard to this matter.

The results of chemical analyses of the seed showed a relatively high amount of protein, which fluctuated between 13 and 17%. Crude fiber levels were also high, about 16%; however, more than 50% of this fiber can be eliminated through sifting of the seed flour. This operation also increases protein content.

Annatto seeds have a high phosphorus and a low calcium content. Its protein contains adequate levels of tryptophan and lysine, but is low in methionine, isoleucine, leucine, phenylalanine and threonine. The protein quality of Annatto seed flour was about 65% that of casein, which was used as reference protein. Partly responsible for this low biological value are the amino acid deficiencies, mainly that of methionine, and the low digestibility of the protein. The latter was 57% as compared to 94% for casein, a finding which can be attributed to the crude fiber content of Annatto seed flour, since partial elimination of the fiber resulted in an increase in digestibility up to a value of 65%.

In order to utilize more effectively this potential feedstuff in combination with other feeds, further studies should confirm the amino acid deficiencies and digestibility of the Annatto seed protein.

BIBLIOGRAFIA

1. Rojas, U. **Elementos de Botánica General**. Guatemala, C. A., Tipografía Nacional, Tomo I, 1925, p. 54, Tomo III, 1936, p. 763, 1087.
2. Diemair, W., H. Janecke & D. Heusser. Pigments of *Bixa orellana*. *Naturwissenschaften*, **39**: 211, 1952.
3. Cook, D. H. & J. H. Axtmayer. Nutritional studies of the foodstuffs used in the Puerto Rican dietary. IV. The extract of the annatto seed, *Bixa orellana*: its preparation and physiological properties. *Am. J. Trop. Med.*, **14**: 61-75, 1934.
4. Squibb, R. L., M. Guzmán & N. S. Scrimshaw. Carotene and riboflavin retention and serum vitamin levels in vitamin A depleted rats fed four forage meals, achiote meal, and African palm oil. *Turrialba*, **3**(3): 91-94, 1953.
5. De Jesús, P. I. & R. Lim. Biological assay of annatto for vitamin A activity. *Acta Med. Philippina*, **5**: 29-36, 1948.
6. Santamaría, L., M. L. Martínez & C. F. Asenjo. Nature of the vitamin A activity of annatto seed (*Bixa orellana* L.). *J. Agric. Univ. Puerto Rico*, **49**: 259-268, 1965.
7. Squibb, R. L., J. Méndez & N. S. Scrimshaw. Valor de las harinas de camote y achiote en raciones para aves de corral. *Turrialba*, **3**(4): 163-166, 1953.
8. Association of Official Agricultural Chemists. **Official Methods of Analysis of the AOAC**. 9th ed. Washington, D. C., The Association, 1960, 832 p.
9. Fiske, C. H. & Y. Subbarow. The colorimetric determination of phosphorus. *J. Biol. Chem.*, **66**: 375-400, 1925.
10. Moss, M. L. & M. G. Mellon. Colorimetric determination of iron with 2, 2'-bipyridyl and with 2, 2', 2''-terpyridyl. *Ind. Eng. Chem. Anal. Edition*, **14**: 862-865, 1942.
11. Hamilton, L. F. & S. G. Simpson. **Talbot's Quantitative Chemical Analysis**. 9th ed. New York, MacMillan Co., 1946, p. 355-359.
12. Steele, B. F., H. E. Sauberlich, M. S. Reynolds & C. A. Baumann. Media for *Leuconostoc mesenteroides* P-60 and *Leuconostoc citrovorum* 8081. *J. Biol. Chem.*, **177**: 533-544, 1949.
13. **Food Industries Manual**. 9th ed. London, Leonard Hill (Books) Ltd., 1962.

14. Orr, M. L. & B. K. Watt. **Amino Acid Content of Foods**. Washington, D. C., U. S. Department of Agriculture, 1957. (Home Economics Research Report No. 4), 41 p.
15. Hegsted, D. M., R. C. Mills, C. A. Elvehjem & E. B. Hart. Choline in the nutrition of chicks. **J. Biol. Chem.**, **138**: 459-466, 1941.
16. Manna, L. & S. M. Hauge. A possible relationship of vitamin B₁₃ to orotic acid. **J. Biol. Chem.**, **202**: 91-96, 1953.