

la levadura de cerveza y las habichuelas soya poseen valores estimulantes mucho mayores; la levadura *Torula* es, aproximadamente, la tercera parte, y las habichuelas rojas ocupan el último lugar a este respecto.

### III. Efectos del calentamiento sobre el valor nutritivo de las levaduras alimenticias

La proteína de la levadura alimenticia (*Torula utilis*) posee valor biológico y una capacidad estimulante del crecimiento inferiores a la mayoría de las levaduras de cerveza<sup>25</sup> que hemos utilizado en este laboratorio en experimentos sobre nutrición.<sup>26</sup> Tratando de mejorar el valor nutritivo de esta fuente tan importante de proteína alimenticia, decidimos someter varias muestras de esta levadura a diferentes formas de calentamiento. Emprendimos nuestra investigación en cooperación con los laboratorios de experimentación (*Pilot Plant*) de la Compañía de Fomento Industrial del Gobierno de Puerto Rico, labor que realizamos en la Escuela de Medicina Tropical como parte de los estudios que iniciamos en el año 1944.

Es cosa conocida desde hace tiempo que el valor nutritivo de una proteína puede modificarse sometiéndola a distintas formas de calentamiento, que en unos casos aumenta,<sup>27</sup> en otros la empobrece<sup>28</sup> y en ocasiones, no la afecta en absoluto.<sup>29</sup> La temperatura, la presión, el tiempo de exposición y la clase de calor utilizado son factores que influyen sobre la proteína y modifican materialmente su naturaleza en mayor ó menor grado. Esta modificación puede consistir en eleva-

25. Fleischman, Tipo 2019.

26. J. A. Goyco and C. F. Asenjo, The net protein value of food yeast. *J.Nutrition*, **33**:593-600, 1947.

27. C. O. Johns and A. J. Finks, Studies in nutrition. II. The role of cystine in nutrition as exemplified by nutrition experiments with the proteins of the Navy bean, *Phaseolus vulgaris*. *J.Biol.Chem.*, **41**:379, 1920.

J. W. Hayward, H. Steenbock, and G. Bohnstedt, The effect of heat as used in the extraction of soybean oil upon the nutritive value of the protein of soybean meal. *J.Nutrition*, **11**:219-234, 1936.

28. A. F. Morgan and G. E. Kern, The effect of heat upon the biological value of meat protein. *J.Nutrition*, **7**:367-379, 1933.

H. A. Waisman and C. A. Elvehjem, The effect of autoclaving on the nutritive value of edestin. *J.Nutrition*, **16**:103-114, 1938.

29. A. Scheunert and C. Venus, Über den Nährwert reiner FleischKost hergestellt aus rohem, gekochtem and autocklaiviertem Muskelfleisch bei Ratten. *Biochem.Ztschr.*, Bd. 219, S.186, 1932.

N. Jarussowa, Der Einfluss des Kocheus auf den Nährwert der Nahrung. *Biochem. Ztschr.*, Bd.209, S.395, 1929.

ción ó disminución del coeficiente de digestibilidad, en alteración de su valor biológico ó de su potencia estimulante del crecimiento. Aunque la naturaleza exacta de la alteración de la estructura molecular de la proteína y otras sustancias afines no se conocen bien, se cree que, en ciertas ocasiones, el calor protege a algunos aminoácidos, y, en otras, los hace más susceptibles a la acción de las enzimas.

Hasta la fecha, el único investigador que ha estudiado la acción del calor sobre las proteínas de levaduras ha sido Axtmayer,<sup>30</sup> quién comunica haber sometido levaduras alimenticias (*Torula utilis*) a una temperatura de 122° C, bajo presión de 15 libras en autoclave, por espacio de 30 minutos, logrando mejorar considerablemente su valor nutritivo. Observó también Axtmayer que una mezcla de arroz y habichuelas (éstas en mayor cantidad) podía complementarse con levadura enriquecida por calentamiento.<sup>31</sup>

## MATERIAL Y MÉTODOS DE EXPERIMENTACIÓN

*Experimento 1. Levadura húmeda en autoclave.* Se utilizó *Torula utilis* no. 3. Después de lavada, húmeda aún, se sometió una porción

TABLA 9

Constituyentes	Dietas		
	A	B	C
Levaduras alimenticias calentadas al autoclave (%)		30.0	
Levaduras sin calentar (%)	30.0		30.0
Almidón de maíz (%)	46.0	46.0	46.0
Aceite vegetal (%)	10.0	10.0	10.0
Sucrosa (%)	8.0	8.0	8.0
Mezcla salina (%)	3.0	3.0	3.0
Polvo de celulosa ( <i>Cellu-flour</i> ) (%)	3.0	3.0	3.0
Tiamina (mg.)	2.0	2.0	2.0
Riboflavina (mg.)	3.0	3.0	3.0
Piridoxina (mg.)	2.5	2.5	2.5
Pantotenato de calcio (mg.)	2.0	2.0	2.0
Acido nicotínico (mg.)	3.0	3.0	3.0
Inositol (mg.)	100.0	100.0	100.0
Colina (g.)	1.0	1.0	1.0
Vitamina A (Unidades de la Farma copea Norteamericana)	3250.0	3250.0	3250.0
Metionina (%)			0.5

30. J. H. Axtmayer, Comunicacion personal al Colegio de Quimicos de Luerto Rico, Octubre 13, 1946.

31. J. H. Axtmayer, Tratamiento de la levadura (*Torula utilis*) para mejorar su valor nutritivo. Informe preliminar. Bol.Asoc.Méd.de Puerto Rico, 38:511-515, 1946.

TABLA 10  
 Valor estimulante del crecimiento de las levaduras alimenticias (Levaduras calentadas al autoclave, levaduras sin calentar y levaduras sin calentar complementadas con metionina)

Dieta	Núm. de animales	Peso al comenzar el experimento (promedio en g.)	Peso a las 3 semanas (g.)	Aumento total de peso a las 3 semanas (g.)	Alimento consumido en 3 semanas (promedio en g.)	Aumento en peso por g. de alimento consumido después de 3 semanas	Aumento de peso por g. de proteína después de 3 semanas (g.)	Peso después de 6 semanas (promedio en g.)	Aumento total en peso después de 6 semanas (g.)	Alimento consumido en seis semanas (promedio en g.)	Aumento en peso por g. de alimento después de 6 semanas (g.)	Aumento en peso por g. de proteína después de 6 semanas (g.)
A	12	50.7	70.4	19.7	109.5	0.179	1.22	85.4	34.7	229.2	0.151	1.02
B	12	49.6	69.6	20.0	108.4	0.183	1.17	71.3	21.7	210.6	0.103	0.66
C	12	49.3	122.1	72.3	170.3	0.425	2.88	152.8	103.0	351.1	0.293	1.99

a calentamiento de 118° C en autoclave, a 20 libras de presión, durante una hora. Luego fué desecada por el procedimiento ordinario, o sea, haciendo pasar la pasta húmeda de levadura por entre dos cilindros calentados al vapor, a 130-140° C de temperatura. Con las dos muestras de levadura, una de ellas calentada al autoclave y la otra sin calentar, preparamos tres raciones alimenticias para la experimentación. Véase la composición en la tabla que sigue.

Para los experimentos del crecimiento corporal sometimos a la alimentación con cada una de esas dietas, 12 ratas, seis machos y seis hembras, de 28 días de nacidas, enjauladas separadamente, tres en cada jaula, con alimento y agua *ad libitum*. Anotóse el consumo diario de alimento y el peso de cada animal durante la semana. Una marca en la oreja servía para identificar individualmente cada animal.

El período de alimentación experimental fué de 42 días. El crecimiento, en proporción a un gramo de alimento y proteína ingerida, se calculó en la tercera y sexta semana de alimentación. Véanse los resultados en la tabla siguiente:

Los valores estimulantes del crecimiento correspondientes a los dos tipos de levaduras calculáronse durante la tercera y la sexta semana después de comenzada la alimentación de prueba. No se apreciaron diferencias de monta entre ambas dietas. Por otra parte, el valor estimulante de la dieta de levadura sin calentar, que contenía 0.5 por ciento de metionina, resultó bastante elevado, de modo que las cifras obtenidas en la sexta semana fueron muy superiores a las correspondientes a la dieta de levadura sola.

*Experimento 2. Levaduras desecadas al autoclave utilizadas como complemento de la ración típica de arroz y habichuelas.* En una cacerola de porcelana mezclábamos 500 g. de levadura seca (*Torula utilis* núm. 3) con agua destilada, hasta obtener un espesor de sopa. Poníase en el autoclave durante una hora, a 20 libras de presión y a 118-122° C, tras lo cual se derramaba la sopa en una bandeja de porcelana y se ponía a secar en un horno de aire caliente, a 40-50° C. Una vez seca se la hacía pasar por el molinillo (Willy) hasta convertirla en polvo bien fino.

La ración de arroz y habichuelas se preparó de acuerdo con la siguiente fórmula culinaria:

Arroz (pulido) . . . . .	270 g.	Habichuelas coloradas secas . . . . .	113 g.
Sal . . . . .	13 g.	(dejadas ablandando en agua	
Manteca de cerdo . . . . .	45 g.	durante la noche)	
Agua . . . . .	c. s.	Ajo . . . . .	1 g.
Cocimiento durante media hora		Cebolla . . . . .	11 g.
		Tomate . . . . .	34 g.
		Tocino . . . . .	31 g.
		Pimiento verde . . . . .	12 g.
		Perejil y otras yerbas aromáticas	8 g.
		Sal . . . . .	7 g.
		Manteca de cerdo . . . . .	30 g.
		Semillas de achiote . . . . .	7 g.
		Agua . . . . .	c. s.
		(Cocimiento durante dos o tres horas)	

Después de cocinadas separadamente, se mezclaban en proporción aproximada de dos partes de arroz y una de habichuelas, que es como se acostumbra servir este plato. Para contrarrestar cualquier déficit de sales minerales que pudiese existir en esta dieta, le añadíamos la mezcla salina (modificada) de Osborne y Mendel,<sup>32</sup> en proporción de un 2 por ciento del peso conjunto, en seco, de arroz y habichuelas. El arroz, las habichuelas y la mezcla salina se hacían pasar dos veces seguidas por una máquina de moler carne hasta que se formaba una pasta uniforme, la cual constituía la dieta basal. Preparábamos ésta todas las semanas y se repartía en frascos bien cerrados que se dejaban conservando en la refrigeradora. Dividida la mezcla en tres porciones iguales, se preparaban las siguientes raciones: Ración núm. 1 = dieta basal sola. Ración núm. 2 = dieta basal, más 10 por ciento de su peso en seco de *Torula utilis* sin calentar. Ración núm. 3 = dieta basal, más 10 por ciento de su peso en seco de *Torula utilis* núm. 3 calentada al autoclave.

Se administró cada una de estas raciones a ratas hembras de 28 días de nacidas (3 ratas con la Ración núm. 1, 3 con la núm. 2 y 4 con la núm. 3). Dos veces a la semana se les dió a todos los animales dosis concentradas de vitamina A y complejo B.<sup>33</sup> Las tres raciones se administraron durante cuatro semanas consecutivas. A partir de la quinta semana hasta la terminación del experimento, la por-

32. P. B. Hawk and B. L. Oser, *op. cit.*

33. 6400 unidades (farmacopea de EE. UU.) de vitamina A; 800 ug. de tiamina; 80 ug. de riboflavina; 9.5 ug. de piridoxina; 12.5 ug. de ácido pantoténico; 2000 ug. de niacina, y 1.6 unidades de un factor filtrado se administraban semanalmente.

ción de levadura añadida a las dietas núm. 2 y núm. 3 se aumentó a 20 por ciento del peso de la mezcla de arroz y habichuelas. Hasta la sexta semana administráronse todas las dietas en estado fresco, pero en las dos últimas semanas la mezcla de arroz y habichuelas se dejó secar antes de adicionarle la levadura, y las tres raciones se administraron en seco. Al final de la cuarta semana, a dos de los animales alimentados con la núm. 1, se adicionó a ésta 0.1 por ciento de metionina.

En la gráfica III aparecen las curvas de crecimiento de los animales alimentados con esas dietas, y en la tabla 11 otros datos referentes al mismo asunto.

TABLA 11  
Valor nutritivo de las raciones

Ración	Peso inicial	Peso final	Aumento total	Peso del alimento consumido	Aumento de peso por gramos de alimento consumido
	G.	G.	G.	G.	
1	61.2	85.7	24.5	315.7	0.077
2	67.0	93.3	26.3	291.6	0.090
3	65.6	93.3	27.7	300.3	0.092

Como puede verse, las levaduras calentadas al autoclave, así como las no calentadas, sirvieron para complementar la ración de arroz y habichuelas hasta cierto límite. Ambos lotes de animales crecieron virtualmente al mismo ritmo, pues las diferencias de peso entre uno y otro fueron muy pequeñas.

Axtmayer<sup>34</sup> ha demostrado que la metionina complementa muy bien la ración de arroz y habichuelas, bastando agregarla en proporción de 0.3 por ciento para que el peso aumente considerablemente. Durante las últimas cuatro semanas del experimento antes indicado, a dos de los cuatro animales alimentados con la dieta basal de arroz y habichuelas, se les dió ésta agregándole 0.1 por ciento de metionina. El crecimiento que se produjo en los animales con esta pequeña cantidad de metionina fué casi igual al que se observó con cualquiera de las dos raciones que contenían levaduras, calentada al autoclave, una de ellas, y sin calentar la otra.

Para completar el experimento, pusimos a alimentar dos lotes de ratas con las Raciones núm. 2 y núm. 3, el primero compuesto de seis

34. J. H. Axtmayer, El valor nutritivo de las proteínas. El Crisol, 1:3-8, 1947.

hembras y ocho machos, y con la segunda, cinco hembras y seis machos. Se las dejó comer *ad libitum* y se anotó la cantidad de alimento consumido.

Esta experimentación tardó cuatro semanas. En la tabla 12 aparecen las pesadas semanales de los dos lotes de animales. Considerando la variación individual en experimentos de este tipo, pudimos notar que el aumento semanal de peso en los dos lotes de animales fué, más o menos, el mismo. Los resultados indican que no hubo diferencia de monta entre la acción alimenticia complementaria producida por las levaduras tratadas o no en autoclave, sobre la ración básica de arroz y habichuelas.

TABLA 12

Peso medio y aumento total en peso de las ratas alimentadas con las raciones núm. 2 y núm. 3. (Dietas secas con 20 por ciento de levaduras)

	Ración núm. 2 (14 animales)		Ración núm. 3 (11 animales)	
	Promedio en peso (g.)	Aumento total (g.)	Promedio en peso (g.)	Aumento total (g.)
Peso inicial	52.0		51.5	
1ª semana	58.9	6.9	55.9	4.4
2ª semana	67.5	15.5	63.8	12.3
3ª semana	72.8	20.8	73.1	21.6
4ª semana	78.7	26.7	76.4	24.9

*Experimento 3. Acción complementaria de la levadura cruda o tratada en autoclave sobre una ración consistente de una parte de arroz cocido y otra de habichuelas coloradas cocidas.* Como no pudimos notar mejoramiento alguno del valor alimenticio cuando la levadura se trató en autoclave en distintas condiciones, decidimos repetir, lo más aproximadamente posible, el experimento de Axtmayer<sup>35</sup> para ver si los resultados eran semejantes a los obtenidos por este autor. Utilizamos entonces una muestra de levadura (*Torula utilis* núm. 3) de la Compañía de Fomento Industrial del Gobierno de Puerto Rico.

Después de mezclada cuidadosamente la dividimos en dos porciones de 500 g., una sin tratar, y a la otra se le agregó agua suficiente, mezclándola hasta consistencia de sopa. Esta mezcla, hecha en un platillo de porcelana, se depositó en el autoclave durante media hora, calentándola a 121-122° C, a 15 libras de presión. Después de

35. J. H. Axtmayer, *op. cit.* (31.)

tratada se puso la levadura a secar en bandejas planas dentro de un horno de aire caliente, a 40-50° C, tras lo cual se la pulverizó en un molinillo Willy (cedazo de 30).

El arroz se puso a hervir en agua hasta que ablandó (media hora, aproximadamente); se le secó a 40-50° C, y se le molió finamente (cedazo de 30). Las habichuelas coloradas se hirvieron también en agua hasta ablandarlas (tres horas y media, aprox.); se las secó en horno de aire caliente (40-50° C), se las molió y pulverizó a máquina.

Analizamos entonces las dos clases de levaduras (tratadas y no tratadas al autoclave), así como el arroz y las habichuelas, para determinar su contenido total nitrogenado, según el método de Kjeldahl.<sup>36</sup> Estos ingredientes se mezclaron en las proporciones que aparecen en la tabla 5 para obtener así dos raciones, cada una de las cuales contenía 18 por ciento de proteína (N x 6.25).

TABLA 13  
Composición de las raciones alimenticias

Ingredientes	Porcentaje del contenido proteínico (análisis)	Ración 1ª		Ración 2ª	
		Porcentaje en la dieta	Porcentaje (Procedencia de la proteína)	Porcentaje en la dieta	Porcentaje (Procedencia de la proteína)
<i>Torula utilis</i> No. 3 (sin calentar)	50.93	8.84	4.5		
<i>Torula utilis</i> No. 3 (calentada al autoclave)	53.37			8.44	4.5
Habichuelas coloradas (cocinadas y secas)	24.25	45.36	11.0	45.36	11.0
Arroz (cocinado y seco)	5.60	44.65	2.5	44.65	2.5
Almidón de maíz		1.15		1.55	

<sup>a</sup> Añadiéronse a ambas dietas las cantidades siguientes de vitamina por kilo de peso: tiamina 2. mg; piridoxina, 2 mg.; riboflavina, 4 mg.; pantotenato de calcio, 2.5 mg.; colina, 1 g. A cada animal se le administró una gota diaria de aceite de hígado de bacalao, equivalente, aproximadamente, a 90 unidades de vitamina A y 9 unidades de vitamina D (Farmacopea de los EE. UU).

Las leves diferencias de contenido proteínico entre las levaduras tratadas o no en autoclave hubimos de corregirlas diluyendo la dieta con almidón de maíz, hasta que ambas contuviesen 18 por ciento de proteínas. La proporción más elevada de contenido proteínico en la levadura tratada al autoclave se debió sin duda a que el calentamiento hizo descender su contenido de humedad.

Para eliminar cualquier variación en el ritmo de crecimiento entre los animales de diferentes camadas, los machos de 28 días de nacidos los distribuimos por igual entre los dos lotes de animales a los que se

36. Official and Tentative Method of Analysis. 4th.ed.Assoc.Official Agric.Chemists, 1935.



les administró las dos raciones alimenticias. En cuanto al sexo se refiere, la variación del ritmo de crecimiento se compensó incluyendo en cada lote de ratas doce machos y seis hembras, o sea, 18 animales por lote. Se procuró que los pesos corporales de los animales en los dos lotes, fueran de la mayor uniformidad posible: peso medio inicial del lote núm. 1: 57.1 g; del lote núm. 2: 57.5 g.

El período experimental duró ocho semanas. Se les dejó alimentarse *ad libitum* y se anotó el consumo alimenticio durante todo ese tiempo.

Las ratas alimentadas con la Ración núm 2 (levadura tratada al autoclave) crecieron a un ritmo levemente más acelerado que las que se alimentaron con la Ración núm. 1 (levadura no tratada), según puede verse en la gráfica IV; pero, al tabular los resultados, se vió que estas diferencias no tenían significación estadística. En la tabla 14 aparecen los datos del aumento total del peso en los dos lotes de animales durante las ocho semanas del experimento, así como también la cantidad de alimento consumido. El valor estimulante del crecimiento de las mezclas de levaduras, arroz y habichuelas  $\left( \frac{\text{gramos de aumento en peso}}{\text{gramos de proteína consumida}} \right)$  resultó virtualmente el mismo en ambos lotes de animales: con la Ración núm. 1, 1.10; con la Ración núm. 2, 1.08. Esto se explica porque, aunque los animales alimentados con la Ración núm. 2 (con levaduras tratadas al autoclave) aumentaron más en peso (5.8 g.), también comieron más y, por consiguiente, ingirieron más proteína en el mismo período de tiempo.

TABLA 14  
Valor estimulante del crecimiento correspondiente a las proteínas existentes en las raciones 1 y 2

Ración	Proteína (%)	Núm. de ratas	Peso medio inicial (g.)	Aumento en peso (promedio g.)	Alimento consumido (promedio g.)	Proteína consumida (promedio g.)	Valor estimulante del crecimiento en la proteína
1	18	18	57.1	90.1	454.4	81.8	1.10
2	18	18	57.5	95.9	496.0	89.2	1.08

#### COMENTARIO

Los datos obtenidos sobre crecimiento no indican que existan diferencias de monta entre el valor estimulante del crecimiento de las proteínas de *Torula utilis*, sean o no tratadas al autoclave. Lo

observado por nosotros no coincide con lo de Axtmayer,<sup>37</sup> quién notó que la *Torula utilis* estimulaba mejor el crecimiento cuando se la calentaba al autoclave, sobre todo cuando se la utilizaba para complementar una ración compuesta a partes iguales de arroz y habichuelas. No se nos alcanza la razón para esta disparidad en las observaciones.<sup>38</sup>

La potencia estimulante del crecimiento que poseen las proteínas en la mezcla de arroz y habichuelas, cuando se utilizó como complemento alimenticio la levadura *Torula utilis*, resultó casi idéntica, fueran o no calentadas en autoclave.

RESUMEN

1. La levadura *Torula utilis* núm. 3, calentada en el autoclave durante una hora a 118° C, a 20 libras de presión, y secada después según los métodos corrientes, posee casi el mismo valor nutritivo que la levadura no calentada, cuando se administran ambas clases de levaduras como fuente única de proteína en una dieta experimental.

2. Si se añade 0.5 por ciento de metionina a una dieta cuya sola fuente de proteína sea levadura no calentada, se triplica el valor estimulante del crecimiento de dicha proteína.

3. El crecimiento y el valor estimulante de éste, en la levadura seca *Torula utilis* núm. 3 (puesta el autoclave a 118-122° C y 20 libras de presión durante una hora), administrada como complemento proteínico de una ración de arroz y habichuelas, resultaron virtualmente idénticos a cuando el complemento utilizado fué levadura sin calentar al autoclave.

4. Cuando se añade 0.1 por ciento de metionina a una ración típica de arroz y habichuelas, aumenta el crecimiento de los animales de experimentación, de tal modo que, al cabo de cuatro semanas, el crecimiento es el mismo que con la ración adicionada con levadura, según se describe en el párrafo anterior.

5. Cuando a la ración de arroz y habichuelas que contenía 50 por-

---

37. J. H. Axtmayer, *op. cit.* (31.)

38. Hemos discutido ampliamente nuestros resultados con el Dr. J. H. Axtmayer, quién nos hizo notar ciertas diferencias en sus procedimientos y los utilizados por nosotros en el experimento número 3:

1. Aunque en su artículo, al referirse a la preparación del alimento, dice que la ración de "arroz y habichuelas" fué "cocida," en realidad estuvo sometida al autoclave durante 20 minutos a 15 lbs. de presión.

2. No mencionó que a los animales se les administró como complemento una pequeña porción de mezcla salina.

3. El peso de los animales, al iniciar su experimento, era inferior y no tan uniforme como el de los nuestros.

ciento de arroz cocido y 50 por ciento de habichuelas cocidas se le adicionó levadura *Torula utilis* núm. 3, calentada al autoclave (media hora, 121-122° C, 15 lbs.), o sin calentar, componiendo una mezcla que contuviese 18 por ciento de proteínas, el crecimiento de reacción observado en los animales de experimentación fué levemente superior con las levaduras calentadas en autoclave que con las no calentadas. Al cabo de ocho semanas de experimentación la diferencia entre la levadura calentada y la otra fué sólo de 5.8 g. Los valores estimulantes del crecimiento en levadura tratada o sin tratar fueron casi los mismos: 1.08 y 1.10. En las condiciones en que se verificaron estos experimentos, no hemos observado diferencias notables entre el valor nutritivo de las dos clases de levaduras.

#### RECONOCIMIENTO

Deseamos consignar nuestra gratitud a la Dra. Marianne Goettsch, del Departamento de Química, por sus valiosos consejos durante el curso de esta investigación; al Sr. Carlos Vincenty de la Compañía de Formento Industrial de Puerto Rico, por las muestras de levadura; al Dr. Enrique Koppisch, jefe del Departamento de Anatomía Patológica, por la cooperación que nos prestó con sus exámenes histológicos, y al Sr. J. L. Janer, jefe del Negociado Estadístico del Departamento de Sanidad de Puerto Rico, por su ayuda analizando los datos numéricos del experimento núm. 3.

*R. L. trad.*