Rev. cubana Cienc. agríc. 1998, 32:75

Calidad proteica de harina de granos crudos de soya (Glycine max.) vigna (Vigna unguiculata) y canavalia (Canavalia gladiata) en ratas en crecimiento

L.A. AGUIRRE, LOURDES SAVON, A. ORAMAS, L.E. DIHIGO y V. RODRIGUEZ

Instituto de Ciencia Animal, Apartado 24, San José de las Lajas, La Habana

Se utilizaron 30 ratas machos Sprague Dawley de 21 días de edad y 45 a 50 g de peso vivo en un diseño de bloques al azar (seis ratas por tratamiento) para evaluar la calidad proteica de tres harinas de granos crudos de leguminosas: canavalia (**Canavalia gladiata**), soya (**Glycine max.**) y vigna (**Vigna unguiculata**) con respecto a la caseína y tomando una dieta basada en albúmina como control de las secreciones endógenas. Los indicadores de calidad evaluados fueron: valor biológico (%), digestibilidad verdadera (%), utilización proteica neta (%), proteína utilizable (%), razón de eficiencia proteica y nitrógeno retenido con respecto al nitrógeno consumido. Se determinaron también los rasgos de comportamiento: peso vivo inicial (g), peso vivo final (g), consumo (g animal^{-1} día^{-1}), ganancia media diaria (g animal^{-1} día^{-1}) y conversión alimentaria y los pesos absolutos (g), relativos al peso vivo (g/g) y relativos al peso metabólico (g/g$^{0.75}$) de los órganos: hígado, páncreas, timo y tiroides. No se detectaron diferencias significativas en los animales que consumieron soya (valor biológico = 74.07, digestibilidad verdadera = 82.93) con respecto al control. Los que consumieron vigna (valor biológico = 57.05, digestibilidad verdadera = 70.21) sí mostraron diferencias ($P < 0.001$), aunque los resultados se consideran satisfactorios. Asimismo, sólo en el caso del hígado se detectó disminución de su peso ($P < 0.001$) por el consumo de estas dos harinas. Con la canavalia los resultados fueron bajos (valor biológico = 52.74, digestibilidad verdadera = 61.65) con disminuciones en el peso del hígado ($P < 0.001$), timo ($P < 0.01$) y tiroides ($P < 0.01$). Se determinó que la calidad proteica de la soya y la vigna crudas fue adecuada, no así la de la canavalia cruda por lo que se recomienda continuar los estudios con las dos primeras y buscar métodos para elevar la calidad de la tercera.

Palabras clave: calidad proteica, ratas, canavalia, soya, vigna

Las leguminosas ocupan cada vez más un lugar preponderante en la alimentación de monogástricos debido a la escasez creciente de fuentes proteicas y a la competencia con el consumo humano. La utilización de estas plantas con tal fin viene dada fundamentalmente por sus altos rendimientos de forraje y de granos y sus elevados contenidos de proteína (Skerman 1977, Hendricksen y Mirson 1985, Viera y Ramis 1994).

Sin embargo, un aspecto que conspira contra el empleo masivo de estas plantas es la presencia de diferentes factores antinutricionales: flavanoides, alcaloides, glicósidos, aminoácidos tóxicos, sustancias con actividad antigénica etc que provocan diferentes trastornos hormonales, atrofia en el crecimiento, daños en la mucosa intestinal, disminución de la disponibilidad de nutrientes y muerte de los animales (Liener 1989). Por estas razones se han investigado diversos métodos físicos, químicos y genéticos (van der Poel 1989, Kaysi y Melcion 1992) para disminuir y eliminar estas sustancias.

También se ha considerado como factor negativo de estas leguminosas los desbalances en su composición aminoacídica fundamentalmente de aminoácidos azufrados (Brunsgaard et al 1994, Martínez et al 1995).

La calidad como fuente proteica de las diferentes leguminosas va a ser muy variable debido a las diferencias en cuanto a composición bromatológica, aminoacídica, de sustancias tóxicas y contenido

energético (FAO 1982, Yeoh et al 1992). De ahí, la importancia de determinar la calidad proteica cuando se pretende introducir estas fuentes en la alimentación animal (Eggum 1973, Eyre 1983).

El objetivo de este trabajo fue determinar por métodos biológicos la calidad proteica de las harinas de granos crudos de las leguminosas: **Canavalia gladiata** (canavalia), **Glycine max** (soya) y **Vigna unguiculata** (vigna) con ratas como animales experimentales.

Materiales y Métodos

Los granos de leguminosas fueron finamente molidos en un molino de martillo a un tamaño de partícula de 0.5 mm. Se prepararon cinco dietas sintéticas experimentales a partir de una dieta basal libre de nitrógeno. A esta se le añadieron diferentes cantidades de los granos molidos de las tres leguminosas, de caseína (libre de grasa y vitaminas) y de albúmina de huevo desgrasada de manera de alcanzar 10% de proteína bruta en los cuatro primeros tratamientos de caseína (control), canavalia, soya, vigna y 4% de proteína bruta en el quinto tratamiento, albúmina para el control de secreciones endógenes según Eggum (1973). En la tabla 1 se muestra la composición de las dietas experimentales.

El procedimiento experimental para el balance de N fue el descrito por Eggum (1973). Se utilizaron 30 ratas machos Sprague-Dawley en grupos de seis, entre 45 y 50 g de peso vivo, de 21 días de edad por tratamiento y fueron alojadas en jaulas de metabolismo individuales. El período de adaptación fue de cuatro días y el de muestreo de cinco. La dieta fue suministrada a un nivel de 10 g MS/día y agua ad libitum. Durante el período de muestreo fueron recolectadas las heces y la orina de cada animal y esta última se conservó en 50 ml de H_2S0_4 al 5% para evitar las pérdidas de N.

Se determinó el contenido de N de heces y orina, el consumo de dieta en el período y el peso de los animales al inicio y al final del balance. Los resultados del tratamiento con albúmina fueron tomados como: N urinario = N endógeno y N fecal = N metabólico (Eggum 1973).

Se determinaron los indicadores de calidad proteica: valor biológico, digestibilidad verdadera, utilización de proteína neta, proteína utilizable, nitrógeno retenido con respecto al nitrógeno consumido y razón de eficiencia proteica según las siguientes fórmulas (Eggum 1973):

$$VB = \frac{N\ cons. - (Nfecal - Nmet.) - (Nurin. - Nend.)}{Ncons.} \times 100$$

$$DV = \frac{Ncons. - (Nfecal - Nmet.)}{Ncons.} \times 100$$

$$UPN = \frac{DV - VB}{100}$$

$$PU = \frac{UPN - PB}{100}$$

$$\frac{Nret}{Ncons.} = \frac{Ncons. - (Nfecal + Nurin.)}{Ncons.}$$

$$REP = \frac{\text{ganancia en peso, g}}{\text{proteína ingerida, g}}$$

Se midieron además el consumo de alimento (g/animal/día), la ganancia media diaria (g/animal/día), la conversión alimentaria y el peso del hígado, páncreas, timo y tiroides, expresados como peso absoluto (g), peso relativo al peso vivo (g/g) y peso relativo al peso metabólico ($g/g^{0.75}$).

Los valores de MS, FB, cenizas y N se determinaron según AOAC (1990) y el fraccionamiento de la fibra según Goering y van Soest (1970). La energía bruta se calculó a partir de los datos ofrecidos para cada ingrediente por Lloyd et al (1982) y Díaz, J. (1996 inédito).

Análisis estadístico. Se utilizó un diseño de bloques al azar (6 bloques por tratamiento). Los resultados del tratamiento con albúmina se utilizaron sólo para la aplicación de las fórmulas antes descritas y no se emplearon en el análisis estadístico. En los casos necesarios se utilizó la dócima de comparación de Duncan (1955).

TABLA 1. Composición de las dietas experimentales

Componentes, g/kg dieta	Tratamientos				
	Caseína	Canavalia	Soya	Vigna	Albúmina
Caseína	93.600	–	–	–	–
Albúmina de huevo	–	–	–	–	40.000
Canavalia	–	372.360	–	–	–
Soya	–	–	325.000	–	–
Vigna	–	–	–	447.312	–
Almidón de maíz	450.486	203.546	272.472	120.174	507.486
Almidón soluble	160.000	160.000	160.000	160.000	160.000
Sacarosa	125.000	125.000	125.000	125.000	125.000
Aceite de soya	70.000	70.000	70.000	70.000	70.000
Celulosa	50.000	21.580	–	30.000	50.000
Mezcla de minerales[1]	35.000	35.000	35.000	35.000	35.000
Mezcla de vitaminas[2]	10.000	10.000	10.000	10.000	10.000
L-cisteína	3.400	–	–	–	–
Bitartrato de colina	2.500	2.500	2.500	2.500	2.500
BHT	0.014	0.014	0.028	0.014	0.014
Análisis, %					
MS	96.88	96.72	91.48	96.89	91.24
N x 6.25 (PB)	9.28	10.50	10.37	10.00	3.97
FB	4.37	5.12	4.00	4.82	4.80
Celulosa	4.83	4.68	3.47	4.29	5.23
Lignina	0.43	0.74	0.23	0.78	0.02
Hemicelulosa	1.29	1.58	1.38	1.54	1.43
Cenizas	2.19	3.69	4.49	4.39	2.84
EB (calculada MJ/kg dieta)	17.80	17.80	17.80	17.80	17.80

[1, 2] Según Reeves et al (1993) [3]Según Lloyd et al (1982) , Díaz, J. 1996 (datos inéditos

Resultados y Discusión

En la tabla 2 se muestran los indicadores de la calidad proteica de las diferentes dietas. La dieta con caseína utilizada como control presentó una digestibilidad alta (cerca a 88%). Su valor biológico es también alto y se encuentra en el rango reportado por otros autores (Henry y Toothill 1962, Eggum 1973) de 72 a 84%.

TABLA 2. Indicadores de la calidad proteica

Rasgos	Indicadores					
	Valor biológico, %	Digestibilidad verdadera, %	Utilización proteína neta, %	Utilización proteína, %	Nret/Ncons.	Razón eficiencia proteica
Caseína	76.26[a]	87.99[a]	67.75[a]	6.29[a]	0.61[a]	4.59[a]
Canavalia	52.74[b]	61.65[c]	33.75[b]	3.54[b]	0.32[c]	–0.71[c]
Soya	74.07[a]	82.93[a]	62.61[a]	6.49[a]	0.59[a]	1.31[b]
Vigna	57.05[b]	70.21[b]	41.26[b]	4.13[b]	0.44[b]	1.70[b]
ES±y Sig.	2.63***	2.11***	3.44***	0.35***	0.03***	0.31***

[abc] Letras diferentes dentro de una misma columna difieren significativamente a $P<0.05$ (Duncan 1955)
***$P<0.001$

Para la dieta con soya también se encontraron buenos resultados que no difieren con los de la de caseína. Si bien algunos autores han indicado índices inferiores (valor biológico = 62%, utilización proteica neta = 56% según Eggum 1973) que se pueden deber al contenido de factores antinutricionales, principalmente inhibidores de proteasas y a la deficiencia de aminoácidos azufrados. Grant et al (1995) señalaron un buen comportamiento en cuanto a ganancia de peso y proteína corporal de ratas que consumieron soya cruda por espacio de 30 días posteriores al destete. Con este experimente se conoció que sólo alrededor de 17% del N de la soya cruda no fue retenido en el organismo (digestibilidad verdadera 82.93%) que su valor biológico fue alto y su proteína utilizable derivada de una medida cuantitativa (proteína bruta) y una cualitativa (utilización proteína neta) fue también elevada. Para ninguno de estos tres indicadores se encuentran diferencias significativas con el tratamiento con caseína.

Para el tratamiento con vigna, aunque los resultados son menores ($P < 0.001$) que los de caseína y soya son indicadores de una calidad adecuada debido a que del 70.21% del N total que fue absorbido (digestibilidad verdadera) 57.05% fue retenido realmente para el crecimiento y mantenimiento (valor biológico) y sus valores de utilización proteica neta y proteína utilizable fueron también altos. Pusztai et al (1992) señalaron un valor similar de utilización proteica neta (37%) para este frijol y Grant et al (1995) obtuvieron comportamientos satisfactorios de ratas que consumieron vigna cruda por espacio de 30 días posteriores al destete.

Los resultados con la canavalia son diferentes. En primer lugar, la digestibilidad del N es baja lo que muestra una mala calidad. El resto de los indicadores (valor biológico, utilización proteína neta y proteína utilizable) confirma que se encuentran muy alejados del control.

Dos indicadores de la calidad muy esclarecedores y que hay que analizar en conjunto son el nitrógeno retenido con respecto al nitrógeno consumido y la razón eficiencia proteica. El primero da una idea

muy precisa de la retención que logra el animal del N que le es aportado y se relaciona con el valor biológico de la proteína. El segundo es una medida que ya involucra la ganancia en peso del animal y se halla muy relacionado con los rasgos de comportamiento (ver tabla 3). Ambos, nitrógeno retenido con respecto al consumido y razón eficiencia proteica se complementan y llegan a brindar juntos una idea de la deposición proteica real en animales con una ganancia de peso similar (Munro y Allison 1969).

Así, al analizar el N retenido con respecto al consumido se observa en la vigna un valor más bajo que en la caseína con la consiguiente disminución de la razón eficiencia proteica y en los indicadores productivos. Sin embargo, al analizar la soya y la canavalia los resultados se tornan algo más difíciles de explicar. La dieta de soya a pesar de no presentar diferencias con la caseína en cuanto a calidad proteica presentan muy baja razón eficiencia proteica, ganancia media diaria y una conversión muy alta, todo lo cual podría explicarse por la presencia de factores antinutricionales (Liener 1989) y por su deficiencia en aminoácidos azufrados (Brungaard et al 1994). Se necesitarían experiencias adicionales para demostrar y discernir la veracidad de estas hipótesis.

Aunque el valor de N retenido con respecto al consumo de la canavalia fue inferior al de caseína, no son de esperar los resultados tan pobres (negativos) en cuanto a razón eficiencia proteica, consumo (gran rechazo a la dieta) y ganancia de peso de los animales durante el período de prueba (valores de ganancia media diaria y conversión también negativos). Estos resultados indican la acción de factores antinutricionales presentes en estos granos fundamentalmente la concanavalina A y la canavanina (Vargas y Michelangeli 1994). El gran rechazo a la dieta puede deberse a una disminución de la palatabilidad o al mecanismo de defensa de los animales al limitar el consumo ante la presencia de compuestos tóxicos que enunciara Lepkovski en 1948 (citado por Enneking et al 1993).

En la figura 1 se observa el comportamiento del peso de los órganos de los animales en los diferentes tratamientos. De todos los órganos estudiados el más

TABLA 3.Rasgos de comportamiento de las ratas durante el período de balance (5 días)

Rasgos	Tratamientos				
	Caseína	Canavalia	Soya	Vigna	ES±
PV inicial, g	53.45	47.41	50.03	51.27	1.55
PV final, g	68.09^{a}	47.11^{c}	54.61^{b}	57.91^{b}	2.30***
Consumo, g/animal/día	8.57^{a}	4.69^{c}	6.99^{b}	7.70^{ab}	0.37***
GMD g/animal/día	2.93^{a}	-0.06^{c}	0.91^{b}	1.27^{b}	0.29***
Conversión	0.63^{a}	-1.29^{c}	1.52^{b}	1.27^{ab}	0.28***

^{abc} Letras diferentes dentro de una misma fila difieren significativamente entre sí a $P < 0.05$ (Duncan 1955)

***$P < 0.001$

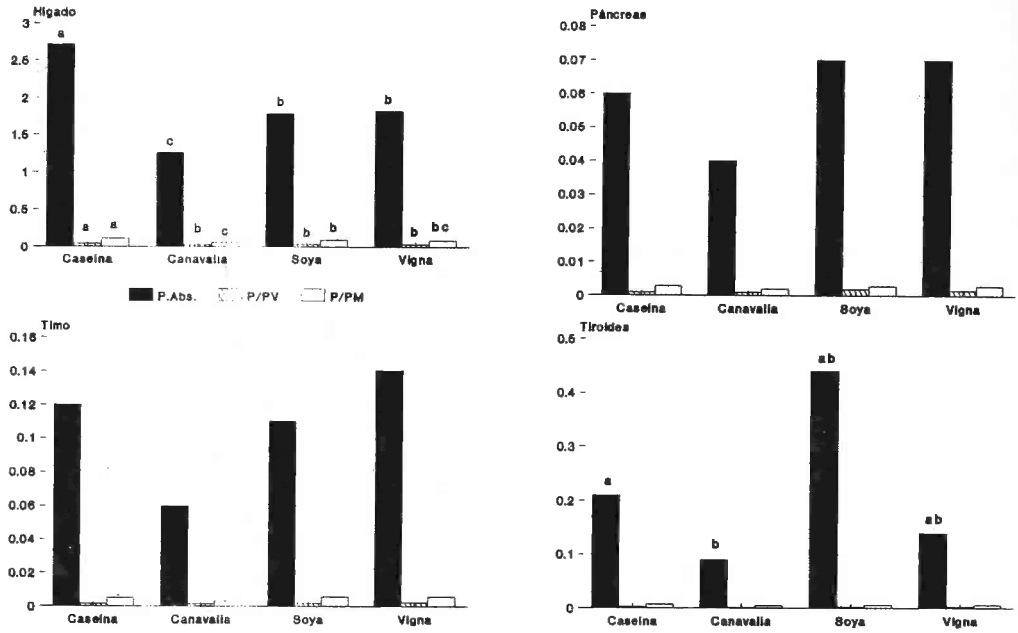

Figura 1. Comportamiento del peso de los órganos: hígado, páncreas, timo y tiroides de ratas alimentadas con caseína, canavalia, soya y vigna

afectado fue el hígado. El consumo de las tres leguminosas provocó atrofia en el peso de este órgano, pérdidas que pudieron ser detectadas con tan alta sensibilidad como el peso relativo al peso metabólico. Sin embargo, el frijol (figura 1) que más afectó por su consumo a este órgano fue la canavalia que provocó pesos tan bajos como 1.26 g de peso absoluto, 0.026 g/g de peso relativo al peso vivo y 0.06 g/g de peso relativo al peso metabólico. Esta atrofia, a la que se sumó hemorragia petequial en los tres tratamientos, es alarmante por ser el hígado un órgano tan determinante en el metabolismo proteico.

Otro órgano afectado, aunque en menor medida que el hígado, fue el timo cuyo peso disminuyó a 0.06 g por el consumo de canavalia con respecto al peso de 0.12 g obtenido para la caseína. Esta atrofia se puede atribuir a la presencia de lectinas como la concanavalina A (Pusztai et al 1993) y determina serios problemas inmunológicos ya que el timo en esta etapa de crecimiento del animal (ratas de 21 días de edad) es un importante órgano involucrado en la producción de linfocitos T.

El páncreas que con frecuencia se encuentra afectado, sobre todo por el consumo de la soya cruda (Birk 1989, Liener 1989) no fue dañado severamente en las condiciones experimentales por ninguna de las leguminosas. Sin embargo, se puede observar (figura 1) un incremento no significativo (hipertrofia) por el empleo de la soya, de acuerdo con lo informado en la literatura. Este hecho se puede deber a la presencia de inhibidores de proteasas en estos órganos. La vigna también provocó un ligero aumento en el peso del páncreas, aunque menor que el de la soya. El consumo de canavalia, por su parte, provocó un descenso no significativo en el peso de este órgano por la ingestión de esta harina.

La canavalia también afectó el peso absoluto de las glándulas tiroides (0.09 g contra 0.21 g para la caseína). Estas glándulas son muy importantes en el metabolismo proteico por la producción de las hormonas T_3 y T_4, sobre todo la T_4, que es determinante en la síntesis proteica en animales en crecimiento (Young 1980).

Los resultados permiten señalar que la harina de granos crudos de soya afecta en

cierta medida los indicadores productivos de ratas en crecimiento, aunque presenta una buena calidad proteica y no afecta el peso de algunos de los órganos relacionados con el status proteico corporal. La vigna, aunque no llegó a presentar la calidad proteica de la soya, fue similar en cuanto a los resultados de estos indicadores y de los indicadores productivos y se pudiera considerar su explotación inmediata en la producción de monogástricos. Esta similitud de comportamientos en cuanto a calidad proteica entre estas dos leguminosas es muy alentadora por ser la soya la leguminosa de uso más extendido en la alimentación de no rumiantes.

Por otro lado, la canavalia cruda ofrece muy pocas expectativas de utilización presenta muy baja calidad proteica y provoca trastornos productivos y en los órganos de los animales que la consumen. Es necesario buscar métodos para la disminución y eliminación de los factores antinutricionales que limitan el empleo de esta planta en la alimentación de monogástricos.

Agradecimientos

Deseamos agradecer a la Lic. Ma. Felicia Díaz y al Ing. R. Cruz su ayuda en el suministro de los granos. Agradecemos también al Ing. J. Martí su asesoramiento en nutrición animal.

Referencias

AOAC 1990. Official Methods of Analysis. Ass. Off. Agric. Chem. 15th ed., Washington, D.C.

Birk, Y. 1989. Protein protease inhibitors of plant origin and their significance in nutrition. Recent Advances of Research in Antinutritional Factors in Legume Seeds. Ed. J. Huisman, A.F.B. van der Poel, I.E. Liener. Pudoc, Wageningen, The Netherlands p. 83

Brunsgaard, G., Kidmose, U., Kaak, K. & Eggum, B.O. 1994. Protein quality and energy density of green peas as influenced by seed size and time of harvest. J. Sci. Fd. Agric. 65:363

Duncan, D.B. 1955. Multiple range and multiple F tests. Biometrics 11:1

Eggum, B.O. 1973. A study of certain factors influencing protein utilization in rats and pigs. Beret. Forsogslab. Statens Husdyrbougsudvalg 406:173

Enneking, D., Giles, L.C., Tate, M.E. & Davies, R.L. 1993. L-canavanine: a natural feed intake inhibitor for pigs (isolation, identification and significance). J. Sci. Fd. Agric. 61:315

Eyre, M.D. 1983. The determination of endogenous urinary nitrogen in protein quality studies with rats. J. Sci. Fd. Agric. 34:957

FAO 1982. Piensos tropicales. FAO, Roma, Italia

Goering, H.K., & van Soest, P.I. 1970. Forage fibre analysis. US Department of Agriculture. Handbook No. 379

Grant, G., Dorward, P.M., Buchan, W.C., Armour, J.C. & Pusztai, A. 1995. Consumption of diets containing raw soya beans (**Glycine max.**), kidney beans (**Phaseolus vulgaris**), cowpeas (**Vigna unguiculata**) or lupin seeds (**Lupinus angustifolius**) by rats for up to 700 days: effects on body composition and organ weights. Brit. J. Nutr. 73:17

Hendricksen, K.E. & Mirson, D.J. 1985. Lablab purpureus. A review. Herb. Abstr. 55:215

Henry, K.M. & Toothill, J. 1962. A comparison of the body water and nitrogen balance sheet methods for determining the nutritive value of proteins. Brit. J. Nutr. 16:125

Kaysi, Y. & Melcion, P. 1992. Traitments technologiques des proteagneux pour le monogastrique: examples de application a la graine de genere (Vicia faba). INRA. Prod. Anim. 5:3

Liener, I.E. 1989. Antinutritional factors in legume seeds: state of the art. Recent Advances of Research in Antinutritional Factors in Legume Seeds. Ed. J. Huisman, A.F.B. van der Poel, I.E. Liener. Pudoc. Wageningen, The Netherlands p. 6-13

Lloyd, I.E., McDonald, B.E., & Crampton, E.W. 1982. Fundamentos de Nutrición. Ed. Acribia, Zaragoza, España

Martínez, J.A., Marcos, R., Macarulla, M.T. & Larralde, J. 1995. Growth, hormonal status and protein turnover in rats fed on a diet containing peas (**Pisum sativum** L.) as the source of protein. Plant Fd. Hum. Nutr. 47:211

Munro, H.N. & Allison, J.B. 1969. Mammalian Protein Metabolism. 4th Ed. N.Y. and London, Academic Press.

Pusztai, A., Grant, G., Brown, D.J., Stewart, J.C., Bardocz, S., Ewen, S.W.B., Gatehouse, A.M.R. & Hilder, V. 1992. Nutritional evaluation of the trypsin (EC 3.4.21.4) inhibitor from cowpea (**Vigna unguiculata** Walp). Brit. J. Nutr. 68:783

Pusztai, A., Ewen, S.W.B., Grant, G., Brown, D.J., Stewart, J.C., Peumans, W.J., van Damme, E.J.M. & Bardocz, S. 1993. Antinutritive effects of wheat germ agglutinin and other N-acetyl glucosamine-specific lectins. Brit. J. Nutr. 70:313

Reeves, P.G., Nielsen, F.H. & Fahey, G.C. 1993. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition. Ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76. A rodent diet. J. Nutr. 23:1939

Skermann, P.J. 1977. Mucuna spp. in tropical forage legumes. FAO Roma. p. 357

van der Poel, A.F.B. 1989. Effects of processing on antinutritional factors (ANF) and nutritional value of legume seeds for non-ruminant feeding. Recent Advances of Research in Antinutritional Factors in Legume Seeds. Ed. J. Huisman, A.F.B. van der Poel, I.E. Liener. Pudoc. Wageningen. The Netherlands. p. 83

Vargas, R.E. & Michelangeli, C. 1994. Utilización de la **Canavalia ensiformis** (L) DC en dietas para aves y cerdos. II Encuentro Regional de Nutrición y Alimentación de Monogástricos. La Habana, Cuba. p. 131

Viera, J. & Ramis, C. 1994. Manejo agroeconómico de la canavalia. II Encuentro Regional de Nutrición y Alimentación de Monogástricos. La Habana, Cuba. p. 122

Yeoh, H., Y. Wee & Watson, L. 1992. Leaf protein contents and aminoacid patterns of dicotiledonous plants. Bioch. Syst. Ecol. 20:657

Young, V.R. 1980. Hormonal control of protein metabolism with particular reference to body protein gain. Protein Deposition in Animals. Ed. P.J. Buttery & D.B. Lidsay. Butterworths p. 167

Recibido 17 de julio de 1997