

## HARINA DE *Cassia aphylla*. ESTUDIO DE LA COMPOSICION QUIMICA Y CALIDAD BIOLOGICA DE LA PROTEINA

S. I. L. de Mucciarelli<sup>1</sup>, M. L. de Arellano<sup>2</sup>, José A. del Cid<sup>2</sup>  
y M. S. Giménez<sup>3</sup>

Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional de San Luis, San Luis, República Argentina

### RESUMEN

El presente estudio se realizó con el objeto de establecer las características químicas y biológicas de la harina de *Cassia aphylla*.

El estudio químico porcentual evidenció un buen contenido proteínico, así como de calcio, fósforo, hierro, ácido ascórbico, niacina y tiamina.

La determinación de aminoácidos demostró que la harina en estudio es una fuente muy buena de lisina y aminoácidos azufrados.

La utilización proteínica neta (NPU) encontrada fue de  $54.70 \pm 2.45$ , la digestibilidad, de  $71.00 \pm 0.3$  y el valor biológico, de 77.00. La razón de eficiencia proteínica (PER) fue de 1.74 corregida con respecto a la caseína.

Para determinar su inocuidad se realizaron ensayos toxicológicos en ratas durante un período de 30 días. Los análisis hematológicos, peso de órganos, composición del hígado y estudio histológico de cortes de hígado y riñón,

---

Manuscrito modificado recibido: 18-3-81.

<sup>1</sup> Profesor Titular de Ensayo y Valoración de Medicamentos, Facultad Química, Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional de San Luis, Chacabuco y Pedernera, (5700) San Luis, Argentina.

<sup>2</sup> Jefe de Trabajos Prácticos de Ensayo y Valoración de Medicamentos de la citada Facultad.

<sup>3</sup> Profesor Titular de Química Biológica II de la Facultad en referencia.

no mostraron daño patológico en las condiciones en que se realizó el ensayo.

A partir de estos resultados, es posible concluir que el producto estudiado es un buen recurso para la alimentación animal.

## INTRODUCCION

El estudio de que aquí se da cuenta inicia una serie de trabajos programados para determinar la composición química, el valor nutritivo y la inocuidad de harinas obtenidas a partir de leguminosas silvestres de la provincia de San Luis, República Argentina.

La *Cassia aphylla*, variedad *aphylla*, es un arbusto áfilo, de 40 cm a 1 m de altura, que fructifica en forma de vaina de 4-11 cm de longitud por 3.5-5 mm de ancho. La vaina encierra de 25 a 30 semillas comprimidas, cada una de 3.5-5 mm de longitud (1).

Esta leguminosa es un vegetal autóctono de distribución generalizada, crece abundantemente dadas las características climáticas de la zona, con precipitación estival entre 500 y 600 mm, prefiere suelos pobres y arenosos, y es resistente a la salinidad y sequía. Se le denomina con los nombres vulgares de "pichanilla" o "cabello de indio".

Esta investigación se llevó a cabo con miras a la utilización de la harina de *Cassia* en la alimentación animal.

## PARTE EXPERIMENTAL

### MATERIAL

La harina a analizar fue obtenida por molienda de las semillas de *Cassia aphylla* en mortero de ágata. Las semillas se recolectaron en estado de madurez (enero-febrero), y se desecaron a 37°C en estufa con corriente de aire. La harina se presenta como impalpable, color blanco-amarillento, y de olor y sabor agradables. Se trabajó con harina cruda.

### METODOS

#### 1. Análisis Químico

Este comprendió las siguientes determinaciones:

a) *Humedad*: Por desecación en estufa a 105°C hasta alcanzar

peso constante.

b) *Proteína*: Por el método de Kjeldahl modificado (2). Para la conversión de nitrógeno a proteína se usó el factor 6.25.

c) *Extracto etéreo*: Por extracción con éter etílico en Soxhlet.

d) *Cenizas totales*: Por calcinación a 550° C.

e) *Fibra cruda*: Por el método de la AOAC (2, 3). Se usó sin tamizar.

f) *Calcio*: Por el método del ácido cloránilico (4).

g) *Fósforo*: Espectrofotometría por formación de azul de molibdeno (5), previa destrucción nítrico-sulfúrica de la materia orgánica.

h) *Hierro*: Espectrofotometría por absorción atómica; destrucción de materia orgánica por calcinación.

i) *Azúcares*: Estimación por el método de Fehling-Causse-Bonnans.

j) *Alcaloides*: Su presencia fue investigada por extracción de acuerdo al procedimiento aplicado por Ruiz y col. (6) para la familia de las cactáceas. Sobre el extracto se hicieron pruebas de precipitación y separación cromatográfica en capa delgada usando como soporte sílica gel G y metanol-amoníaco (100-1.5). Se usó el reactivo yodo-platínico como reactivo revelante.

k) *Acido ascórbico*: Por el método de Roe y Kuether modificado (7).

l) *Niacina*: Valoración microbiológica (8).

m) *Tiamina*: Valoración microbiológica (8), extrayéndose la muestra en alcohol clorhídrico (9); el solvente fue eliminado en rotavapor.

## 2. Determinación del Valor Nutritivo

a) *Composición de la proteína*. Los aminoácidos fueron valorados en Autoanalizador Beckman 120 C, usándose resina Beckman tipo PA-35 para aminoácidos ácidos y neutros, y resina Beckman tipo W-1 para los básicos; el contenido de triptofano y cistina fue determinado por métodos microbiológicos según Basualdo, Carrera y Sanahuja (10).

b) *Utilización proteínica neta (NPU)*. Se determinó por el método de Miller y Bender (11), empleando 12 ratas cepa Wistar de 30 días de edad. Se trabajó con tres lotes, dos de los cuales se alimentaron con la dieta problema, el tercero con la dieta apteica. Las dietas fueron preparadas de acuerdo a lo señalado por

Sambucetti, Gallegos y Sanahuja (12). En la dieta experimental, el 10% de proteína fue aportado por la harina cruda en estudio, que contiene 3.87% de N. Para el cálculo de nitrógeno corporal se utilizó la ecuación:

$$y = 2.92 + 0.02 x$$

donde  $y$  representa la relación N/H<sub>2</sub>O y  $x$  la edad de las ratas en días.

c) *Digestibilidad*. En el mismo experimento anterior, se determinó la digestibilidad verdadera, usando la siguiente fórmula (11):

$$D = \frac{I - (F - F_k)}{I} \times 100$$

I = Valor del nitrógeno ingerido.

F = Contenido de nitrógeno fecal en las ratas con dieta de ensayo.

F<sub>k</sub> = Contenido de nitrógeno fecal de ratas con dieta apteica. Este estudio se repitió cinco veces a fin de encontrar valores estadísticos.

El valor biológico (VB) fue calculado usando la relación entre el UPN y D, fue como sigue:

$$VB\% = \frac{UPN}{D} \times 100$$

d) *Razón de eficiencia proteínica (PER)*. Se determinó aprovechando la experiencia para ensayos de toxicidad, haciéndose la determinación de acuerdo a lo señalado por Campbell (13). Se llevó un registro diario de la dieta ingerida, y los animales fueron pesados cada dos días. El valor obtenido se corrigió con respecto a la caseína, que se llevó a 2.50.

### 3. Ensayos de Inocuidad

*Experimentación biológica*. Se utilizaron 20 ratas, 10 machos y 10 hembras de 21 días de edad, las que se agruparon en dos lotes, A y B, con un total de 5 machos y 5 hembras cada uno.

El lote A fue alimentado con la dieta problema durante 30 días y el lote B, que sirvió de control, con una dieta en la que el

10% de proteína fue suministrado por caseína (12). Los animales recibieron agua y dieta *ad libitum*. Al término del ensayo los animales se sacrificaron por punción cardíaca, extrayéndose sangre y algunos órganos.

a) Se determinó el peso individual de algunos órganos: hígado, riñón, cerebro, bazo, páncreas, y testículo u ovario.

b) *Análisis hematológico*. En sangre total, usando el "pool" de ratas macho y hembra correspondientes al lote experimental y control, se determinó: hematocrito (micro hematocrito) y hemoglobina, por el método de la cianometahemoglobina (14). En plasma: proteínas totales por reacción de Biuret (15), albúmina y globulinas por electroforesis en acetato de celulosa gelificada, fosfatasas alcalinas (16), y urea por el método de la ureasa (17).

c) *Composición del hígado*. Se estudió individualmente la composición porcentual de agua (método indirecto); grasa (extracción en Soxhlet con éter etílico) y proteína por el método de Kjeldahl (2), usando 6.25 como factor de conversión.

d) *Análisis histológico*: Este se realizó en cortes de hígado y riñón, los que se fijaron con líquido de Bouin, e inclusión en parafina, usando coloración hematoxilina-eosina.

#### *Investigación de Factores Tóxicos*

a) *Actividad antitriptica*. La concentración de factores antitripticos se determinó usando caseína como sustrato de la tripsina (18).

b) *Actividad hemaglutinante* (19). Los extractos se prepararon suspendiendo la harina en solución de NaCl al 1% en la proporción de 1:5.

c) *Ensayo de toxicidad parenteral*. Los extractos se obtuvieron suspendiendo la harina en solución de NaCl al 1% en la proporción de 1:10 (20).

### RESULTADOS

Los resultados del análisis químico se presentan en la Tabla 1. Se observa un buen contenido de proteína y azúcares, siendo de destacar el alto contenido de calcio, fósforo y vitaminas, especialmente de ácido ascórbico, así como el de tiamina y niacina.

En cuanto a la investigación de alcaloides, ésta fue positiva. Estudios posteriores por cromatografía en capa delgada, nos

TABLA 1

COMPOSICION QUIMICA PORCENTUAL DE LA HARINA  
DE *Cassia aphylla*

Humedad	6.90 g/100 g
Proteína	24.20 "
Extracto etéreo	6.51 "
Cenizas totales	6.60 "
Fibra cruda	6.15 "
Azúcares	32.70 "
Acido ascórbico	21.00 mg/100 g
Niacina	2.00 "
Tiamina	0.500 "
Fósforo	530.00 "
Hierro	24.00 "
Calcio	1.20 g/100 g

permitieron apreciar la presencia de cuatro fracciones revelables por el reactivo yodo-platínico.

La composición en aminoácidos esenciales de la harina estudiada se consigna en la Tabla 2. Los resultados obtenidos muestran que el producto sometido a examen es una excelente fuente de lisina y de aminoácidos azufrados.

En la Tabla 3 se señalan los resultados obtenidos mediante experimentación biológica, lo que nos permitió evaluar la calidad proteínica. Se obtuvo un valor de PER igual a 1.95 en contraste a un valor de 2.80 para caseína. El PER corregido llevando a 2.50 el de caseína, resultó igual a 1.74.

Los resultados de las determinaciones bioquímicas, realizadas en el "pool" de ratas macho y hembra correspondientes a los lotes experimental y control se exponen en la Tabla 4. Estos corresponden a hematocrito, hemoglobina, proteínas plasmáticas totales, albúmina, globulina, urea y fosfatasa alcalina. Como puede apreciarse, los datos obtenidos fueron similares.

En la Tabla 5 se muestran los pesos relativos de algunos órganos: hígado, riñón, cerebro, bazo, páncreas, testículo y ovario. Se comprobó que el cerebro, riñón y páncreas, tenían un peso mayor con respecto al lote control ( $P < 0.05$  para los dos primeros y  $P < 0.01$  para páncreas). Por el contrario el peso de testículo del lote experimental fue menor ( $P < 0.05$ ). En cuanto a hígado, bazo

**TABLA 2**  
**CONTENIDO DE AMINOACIDOS DE HARINA**  
**DE *Cassia aphylla***

Aminoácido	g/16gN
Lisina	7.43
Metionina	1.11
Cistina	2.92
Isoleucina	3.92
Leucina	8.67
Fenilalanina	3.30
Tirosina	2.35
Treonina	2.68
Triptofano	0.98
Valina	4.62
Arginina	13.95
Alanina	5.24
Acido aspártico	12.76
Acido glutámico	24.47
Glicina	7.35
Prolina	4.33
Serina	6.97

**TABLA 3**  
**CALIDAD BIOLOGICA DE LA PROTEINA**  
**DE *Cassia aphylla***

NPU	54.70 ± 2.45*
PER	1.74**
Digestibilidad	71.00 ± 0.3
Valor biológico	77.00

\* Media ± desviación estándar.

\*\* Corregido respecto a caseína, que se llevó a 2.5.

TABLA 4

RESULTADO DEL ANALISIS BIOQUIMICO DEL "POOL" DE SANGRE DE RATAS MACHO Y HEMBRA ALIMENTADAS CON LA DIETA EXPERIMENTAL Y CON LA DIETA CONTROL

	Dieta control (Caseína)		Dieta experi- mental	
	Machos	Hembras	Machos	Hembras
Hematocrito, %o	45	44	43	41
Hemoglobina, g/dl	16.00	14.90	15.00	14.00
Proteínas plasmáticas, g/dl	5.00	5.40	4.78	4.72
Albumina, g/dl	3.10	3.40	2.90	2.60
Globulinas, g/dl	1.90	2.00	1.88	2.12
Urea	0.46	0.43	0.55	0.52
Fosfatasas alcalinas, m U/ml	14.70	16.00	19.00	18.00

y ovarios, las diferencias carecen de significación.

Los datos obtenidos en el estudio de la composición porcentual de hígado (Tabla 6), no evidencian diferencia alguna entre lote experimental y problema.

El estudio realizado en cortes de hígado y riñón no reveló alteraciones.

La determinación de la actividad antitriptica dio un resultado de 19.1 unidades de tripsina inhibidas/mg proteína.

Se sometió a prueba la actividad hemaglutinante, para lo cual se tomó un gramo de harina, se suspendió en 5 ml de solución fisiológica y se centrifugó; con el extracto se realizaron las diluciones correspondientes; no se observó aglutinación.

#### CONCLUSIONES

Los estudios realizados en ratas, empleando dieta con harina de *Cassia aphylla*, muestran que ésta es una buena fuente de proteína, de muy buen contenido en lisina y aminoácidos azufrados, valores éstos superiores a los de soya.

El contenido de minerales como calcio, hierro y fósforo es

TABLA 5  
 PESO DE ORGANOS DE RATAS MACHO Y HEMBRA ALIMENTADAS CON LA DIETA EXPERIMENTAL  
 Y CON LA DIETA CONTROL

Peso de las ratas	Dieta control		Dieta experimental	
	Machos	Hembras	Machos	Hembras
	181 ± 13.6*	162.8 ± 16	167.3 ± 17.7	137.2 ± 15.2
<b>Organos pesados:</b>				
Hígado, g/100 g de rata	4.42 ± 0.17	4.21 ± 0.10	4.38 ± 0.20	4.40 ± 0.18
Riñón, g/100 g de rata	0.85 ± 0.04	0.90 ± 0.8	0.90 ± 0.06**	1.04 ± 0.10**
Cerebro, g/100 g de rata	0.69 ± 0.11	0.76 ± 0.10	0.80 ± 0.07**	0.90 ± 0.07**
Bazo, g/100 g de rata	0.17 ± 0.01	0.16 ± 0.02	0.17 ± 0.01	0.16 ± 0.03
Páncreas, g/100 g de rata	0.39 ± 0.04	0.44 ± 0.05	0.41 ± 0.05***	0.43 ± 0.03***
Testículo, g/100 g de rata	1.23 ± 0.07	—	1.03 ± 0.23***	—
Ovario, mg/100 g de rata	—	29.4 ± 1.07	—	28.7 ± 3.42

\* Media ± desviación estándar.

\*\* Diferencia significativa respecto al lote control ( $P < 0.05$ ).

\*\*\* Diferencia significativa respecto al lote control ( $P < 0.01$ ).

TABLA 6

COMPOSICION DEL HIGADO DE RATAS MACHO Y HEMBRA  
ALIMENTADAS CON LA DIETA EXPERIMENTAL Y CON LA  
DIETA CONTROL  
(g/100 g de hígado)

	Dieta control		Dieta experimental	
	Machos	Hembras	Machos	Hembras
Agua	69.7 ± 0.9*	67.9 ± 0.6	71.9 ± 0.7	69.5 ± 0.3
Grasa	5.5 ± 0.4	5.8 ± 0.4	4.9 ± 0.3	5.2 ± 0.3
Proteína	20.7 ± 0.23	21.4 ± 0.53	20.6 ± 0.18	20.0 ± 0.38

\* Media ± desviación estándar.

alto. Es también apreciable el contenido de vitaminas, en particular ácido ascórbico, tiamina y niacina.

El valor de la razón de eficiencia proteínica (PER) es de 1.74, corregido con respecto a caseína, que se llevó a 2.5, valor que es aceptable para este tipo de alimentos. Se obtuvo una NPU de  $54.70 \pm 2.45$ , comparable al de soya, que es de 56.0 (11), la digestibilidad fue de  $71.00 \pm 0.3$  y el valor biológico, de 77.00.

El análisis bioquímico no reveló diferencias de significación en contraste al lote patrón, lo que indicaría ausencia de síntomas de mal funcionamiento orgánico en las condiciones que se realizó el ensayo de 30 días.

El peso de los órganos sí reflejó la diferente calidad de harina ensayada, ya que el riñón, cerebro y páncreas tuvieron pesos mayores en el lote problema siendo la diferencia de mayor significación para el páncreas ( $P < 0.01$ ). Ello puede deberse a la presencia de factores tóxicos como son los inhibidores de la tripsina que producen hipertrofia del páncreas (21) debido a que su acción se relaciona con la utilización de la metionina (22); sin embargo, sus efectos pueden ser eliminados por tratamiento térmico.

La composición del hígado no reveló diferencias significativas en su contenido, y el estudio histológico del hígado y riñón mostró estructuras normales.

Podemos así concluir que el alimento estudiado es inocuo en el nivel de harina que se usó en la dieta, y en el tiempo y condiciones de nuestro experimento. Nuestro propósito es seguir trabajando con ella, ajustándonos al tipo de experiencias preconizadas por la FAO y entonces podremos intentar los estudios de complementación aminoacídica.

## SUMMARY

*Cassia aphylla* FLOUR. STUDY OF THE CHEMICAL COMPOSITION AND BIOLOGICAL QUALITY OF THE PROTEIN

The chemical and biological value of the flour from *Cassia aphylla* was determined.

The chemical study showed that this flour contains a good amount of protein, calcium, phosphorus, iron, ascorbic acid, niacin and thiamine. It is also a good source of lysine and sulfur amino acids.

Tests concerning nutritive value carried out were: net protein utilization (NPU),  $54.7 \pm 2.45$ ; digestibility,  $71.00 \pm 0.30$ ; biological value, 77.00, and protein efficiency ratio (PER) 1.74, corrected with respect to casein. Toxicological tests were performed with rats during a period of 30 days. The criteria used in these tests were: hematological data, organ weights, liver composition and histopathology of the liver and kidney. These tests revealed no signs of pathological damage under the experimental conditions used by us.

Based on these results, it can be concluded that this product has a potential value as a feedstuff.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Lic. Susana Domínguez, de la Cátedra de Histología de la Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia de la Universidad Nacional de San Luis, la realización del estudio histológico, y a la Dra. Nora Kaba, de la Cátedra de Bromatología y Nutrición Experimental de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad de Buenos Aires, la determinación de triptofano y cistina.

## BIBLIOGRAFIA

1. Burkart, A. *Las Leguminosas Argentinas Silvestres y Cultivadas*. Buenos Aires, Editorial ACME AGENCY, SRL., 1943, p. 165.
2. Association of Official Agricultural Chemists. *Official Methods of Analysis of the AOAC*. 9th. ed. Washington, D.C., The Association. 1969, p. 286.
3. Pearson, D. *The Chemical Analysis of Foods*. London, A. Churchill Ltd., 1962, p. 29.

4. **Standard Methods of Chemical Analysis.** Vol. III-B. **Instrumental Analysis.** F. J. Welcher with 84 contributors. Princeton, New Jersey, Van Nostrand Co. Inc., 1966, p. 1,110.
5. Jacobs, M. B. **Chemical Analysis of Food and Food Products.** New York, N. Y., R. Kriger Publishing Co. Inc., 1973, p. 754.
6. Ruiz, S. O., G. Neme, M. Nieto & A. T. D'Arcangelo. Alcaloides de cactáceas. **Anales de la Asoc. Química Argentina**, 61: 41-44, 1973.
7. Strohecker, R. & H. M. Henning. **Análisis de Vitaminas. Métodos Comprobados.** Madrid, Editorial Paz Montalvo, 1967, p. 296.
8. Carrera, P. A. & R. N. Basualdo. Estudio de los métodos microbiológicos para la determinación de vitaminas hidrosolubles en oleaginosas. **Rev. Asoc. Bioquímica Argentina (192-193)**: 74-85, 1975.
9. Strohecker, R. & H. M. Henning. **Análisis de Vitaminas.** Madrid, Editorial Paz Montalvo, 1967, p. 115.
10. Basualdo, R., P. Carrera & J. C. Sanahuja. Determinación de aminoácidos y vitaminas hidrosolubles en harinas de girasol por métodos microbiológicos. **Rev. Asoc. Bioquímica Argentina**, XXXVI: 1-9, 1971.
11. Miller, D. S. & A. E. Bender. The determination of the net utilization of proteins by a shortened method. **Brit. J. Nutr.**, 9: 382-388, 1955.
12. Sambucetti, M. E., G. Gallegos & J. C. Sanahuja. Estudio de la proteína extraída de las semillas de lino. Valor nutritivo e inocuidad. **Arch. Latinoamer. Nutr.**, 23: 79-94, 1973.
13. **Evaluation of Protein Quality.** Washington, D. C., National Academy of Sciences-National Research Council, 1963, p. 19. (Publications 1,100).
14. Ióvine-Selva. **El Laboratorio en la Clínica.** Tomo I. Buenos Aires, Argentina, Editorial Panamericana, 1975, p. 43.
15. Henry, R. J. **Química Clínica. Principios y Técnicas.** Barcelona, Editorial Jims, 1969, p. 216 y 259.
16. Richard, J. & M. D. Henry. **Química Clínica.** Barcelona, Editorial Jims, 1969, p. 592.
17. Richard, J. & M. D. Henry. **Química Clínica.** Barcelona, Editorial Jims, 1969, p. 322.
18. Kakade, M. L., N. Simmons & J. E. Liener. An evaluation of natural vs. synthetic substrates for measuring the antitryptic activity of soybean samples. **Cereal Chem.**, 46: 518-525, 1969.
19. Jaffé, W. G. & O. Brucher. Toxicidad y especificidad de diferentes fitohemaglutininas de frijoles (*Phaseolus vulgaris*). **Arch. Latinoamer. Nutr.**, 22: 267-281, 1972.
20. Jaffé, W. G. Factores tóxicos en leguminosas. **Arch. Latinoamer. Nutr.**, 18: 205-218, 1968.
21. Birk, Y. Chemical and nutritional significance of protein inhibitors

- from plant sources. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **146**: 338-399, 1968.
22. Lam-Sánchez, A. Production and nutritive value of soybeans. *Arch. Latinoamer. Nutr.*, **28**: 155-168, 1978.