

Estudio de algunas características de las proteínas de *Canavalia*

Ramírez M., Alejandra O. y Ortiz de Bertorelli, Ligia

Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela

RESUMEN. El objetivo de este estudio fue aislar y caracterizar las proteínas del grano de los genotipos venezolanos de *Canavalia ensiformis*: U-02, Yaracuy, Valle de La Pascua, Original y Tovar. Estos genotipos presentaron un contenido proteico promedio de 31,37%, el cual varió entre 28,44% y 33,05%. El aislamiento de las proteínas se llevó a cabo según su solubilidad, lográndose extraer en promedio 84,57% de albúminas, globulinas y nitrógeno no proteico y 15,43% de glutelinas reducidas insolubles en alcohol (AIG). El contenido de los factores antinutricionales (canavanina y título hemaglutinante) en las fracciones proteicas fue: Albúminas 1,96%, +4; Globulinas 0,17%, +5; AIG 0,22%, +1; observándose que las fracciones proteicas del genotipo Tovar mostraron los valores más bajos de Canavanina (0,79%; 0,02% y 0,00% respectivamente). La digestibilidad proteica *in vitro* reveló que las globulinas fueron las proteínas que presentaron mayor digestibilidad (65,20%), seguidas de las albúminas (58,90%) y de las AIG (37,28%).

Palabras clave: Canavalia, aislamiento proteico, digestibilidad proteica, factores antinutricionales.

SUMMARY. Characterization of protein from *Canavalia*. The purpose of this work was the isolation and characterization of grain protein from five Venezuelans Genotypes (U-02, Yaracuy, Valle De La Pascua, Originaly Tovar) of Jack Bean (*Canavalia ensiformis*). The average protein content from these genotypes was 31.37%, it ranged between 28.44% and 33.05%. The protein isolation was performed by solubility extraction procedures, showed: 84.57% of albumins, globulins and non proteic nitrogen and 15.43% of alcohol insoluble reduced glutelin (AIG). The content of antinutritional factors (canavanine and hemagglutination title) found in protein fractions were respectively: Albumins 1.96%. +4; globulins 0.17%. +5 and AIG 0.22%. +1. It was observed that protein fractions of genotype Tovar had the lowest canavanine values (0.79%, 0.02% and 0.00% respectively). The globulins gave the highest *in vitro* protein digestibility (65.20%) followed by Albumins (58.90%) and AIG (37.28%).

Key words: Jack Bean, protein isolation, protein digestibility, antinutritional factors.

INTRODUCCION

Las leguminosas se caracterizan por tener un contenido proteico alto, el cual varía entre 17% y 50% predominando las globulinas que constituyen del 50% al 80% de la proteína total. Las albúminas y glutelinas representan porcentajes menores y las prolaminas se encuentran desde trazas hasta un 3% (1).

En *canavalia* se ha reportado que el 30% de la proteína total del grano está compuesto por 45% de globulinas, 23% de glutelinas y 14% de albúminas. La extracción de las albúminas en estos granos se ha logrado utilizando agua y solución de NaCl 0,5 M respectivamente. Caracterizándose las albúminas por tener aminoácidos azufrados, lo que le confiere un valor biológico mayor que el del resto de las proteínas (2).

Los aminoácidos que más abundan en las proteínas del grano de *canavalia*, al igual que en la mayoría de las leguminosas, son escasos en los cereales y viceversa, por esta razón una mezcla de partes iguales de estos granos, tendrá un valor nutritivo de más del doble que el de cada componente por separado. Esta suplementación en el valor biológico de las proteínas de las leguminosas y cereales es de gran importancia en la alimentación popular (3).

La utilización de la *canavalia* como recurso alimenticio está limitada por la baja digestibilidad de sus proteínas (4) y por la

presencia de factores antinutricionales tales como la concanavalina A, la canavanina y los taninos. Sin embargo existen evidencias del efecto positivo de algunos tratamientos como el remojo, la cocción y el tostado en la reducción de estos factores y en el aumento de la digestibilidad proteica (2,4).

En Venezuela, al igual que en otros países, hay un gran interés por utilizar esta leguminosa como fuente alimenticia, con este propósito se han realizado, con éxito, estudios de mejoramiento que han llevado al desarrollo de genotipos venezolanos de buenas características agronómicas y nutricionales (5), de los cuales se hace necesario conocer su composición proteica, así como las características bioquímicas y nutricionales de las proteínas, con la finalidad de continuar el mejoramiento de este cultivo para su utilización animal y humana.

MATERIALES Y METODOS

Materiales

Los granos de los genotipos venezolanos de *Canavalia ensiformis*, utilizados en este trabajo, fueron suministrados por el profesor Julio Viera del Instituto de Genética de la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela, e identificados como: U-02, Yaracuy, Valle de La Pascua, Original y Tovar.

Métodos

Preparación de las harinas: Los granos de los diferentes genotipos fueron lavados con agua, dejados secar durante una noche a 37°C en estufa de aire forzado y luego molidos en un molino con malla de 0,5 mm. Las harinas fueron desgrasadas con éter de petróleo, usando una relación 1:3 (p/v) y almacenadas a una temperatura entre 8° y 10°C para su posterior análisis.

Análisis de nitrógeno: Fue utilizado el método micro-Kjeldahl descrito en el AOAC (6). El contenido de proteína fue calculado multiplicando el nitrógeno obtenido por 6,25 (7).

Fraccionamiento de las proteínas: Las proteínas fueron fraccionadas, según su solubilidad, siguiendo el método de Paulis y Wall (8). Los extractos proteicos recolectados fueron dializados contra agua destilada por 48 h. Las globulinas precipitadas fueron separadas de las albúminas por centrifugación. Las fracciones proteicas fueron liofilizadas y almacenadas entre 8° y 10°C.

Factores antinutricionales: a) Canavanina: Se determinó por el método colorimétrico descrito por Bell (9), usando el reactivo pentacianoamminoferrato. b) Título hemaglutinante: Se realizó por el método señalado por Jaffé (10), utilizando sangre de conejo y citrato de sodio como anticoagulante.

Digestibilidad proteica in vitro: Se procedió según el método de Akeson y Stahman (11), utilizando caseína como proteína patrón.

Análisis estadísticos: Los resultados obtenidos en el fraccionamiento proteico y en la digestibilidad *in vitro*, se sometieron a un análisis de varianza a un nivel de significación del 5%, complementado con una prueba de comparación múltiple de medias de Tukey.

RESULTADOS Y DISCUSION

Fraccionamiento proteico

Con el fraccionamiento proteico (Tabla 1), se logró extraer un promedio de 80.05% del total de la proteína de los granos estudiados, correspondiendo un 67,70% a la fracción constituida por las albúminas, globulinas y nitrógeno no proteico y un 12,35% a la fracción formada por las glutelinas reducidas insolubles en alcohol (AIG). En estos granos de canavalia no se detectaron ni prolaminas ni glutelinas solubles en alcohol (ASG).

En las proteínas de la canavalia (Tabla 2), al igual que en otras leguminosas, la fracción compuesta por las albúminas y globulinas fue la más abundante (84,57%), resultados que coinciden con los de la literatura revisada (2, 16-21). En cambio, las AIG constituyeron la fracción de menor proporción (15,43%) en todas las muestras analizadas.

TABLA 1
Fraccionamiento de las proteínas del grano de cinco genotipos de *Canavalia ensiformis*

Genotipos	Fracción proteica (%) *				Proteína recuperada
	ALB, GLO, NNP	Prolaminas	ASG	AIG	
U-02	69,21	—	-	11,73	80,94
Yaracuy	69,88	—	-	12,41	82,29
Tovar	65,39	—	-	12,52	77,91
Original	64,48	—	-	11,33	75,81
Valle de La Pascua	69,54	—	-	13,77	83,31
Promedio	67,70	—	-	12,35	80,05

* Gramos de fracción proteica/100 g de proteína

TABLA 2
Fracciones proteicas promedio del grano de cinco genotipos de *Canavalia ensiformis*

Genotipos	Fracción proteica (%) **		
	% Proteína*	ALB, GLO, NNP	AIG
U-02	33,05 ^a	85,50 ^a	14,50 ^b
Yaracuy	30,91 ^b	84,92 ^a	15,08 ^b
Tovar	32,70 ^a	83,93 ^b	16,03 ^a
Original	28,44 ^c	85,05 ^a	14,95 ^b
Valle de La Pascua	31,73 ^{a,b}	83,47 ^b	16,53 ^a
Promedio	31,37	84,57	15,43

* % en base seca

** Gramos de fracción proteica/100 g de proteína Los promedios en columna que presentan letras comunes no alcanzan entre sí, diferencias significativas al nivel del 5%.

El análisis estadístico detectó diferencias significativas al nivel del 5%, entre los contenidos de las fracciones proteicas, demostrando la prueba de medias que los genotipos U-02, Yaracuy y Original tienen una composición proteica similar. Estos genotipos presentan la mayor proporción de la fracción albúminas, globulinas y nitrógeno no proteico (84,92%-85,50%) y el menor contenido de AIG (14,50%-15,08%). Igualmente, la composición de las proteínas de los genotipos Tovar y Valle de La Pascua fue la misma, teniendo estos granos menor cantidad de albúminas, globulinas y nitrógeno no proteico (83,47%-83,93%) y mayor porcentaje de AIG (16,03%-16,53%) que los anteriores.

Contenido proteico de las fracciones proteicas

La cantidad de proteína presente en las albúminas, globulinas y las AIG se muestra en la Tabla 3, se observa que el contenido proteico promedio de estas fracciones fue 68,15%;

87,42% y 12,36% respectivamente, lo que indica que la fracción globulinas es la que tiene el mayor contenido proteico y por ende la mayor pureza. Estos resultados concuerdan con los reportados por otros autores para otras leguminosas (17, 19).

TABLE 3
Pureza (% proteína) de las fracciones proteicas del grano de cinco genotipos de *Canavalia ensiformis*

Genotipos	Fracción proteica		AIG
	Albuminas	Globulinas	
U-02	66,44	89,40	11,80
Yaracuy	71,65	88,48	12,49
Tovar	73,39	83,34	12,59
Original	63,34	88,47	11,30
Valle de La Pascua	65,64	87,42	13,61
Promedio	68,15	87,42	12,36

Factores antinutricionales

En las Tablas 4, 5 y 6 se indican los resultados obtenidos en la determinación de los factores antinutricionales (canavanina y título hemaglutinante) de las fracciones proteicas del grano de los cinco genotipos de *Canavalia ensiformis*.

TABLE 4
Concentración de canavanina y título hemaglutinante en las albúminas de cinco genotipos de *Canavalia ensiformis*

Genotipo	Canavanina %	Título hemaglutinante
U-02	2,04	+ 6
Yaracuy	1,50	+ 4
Tovar	0,79	+ 4
Original	3,65	+ 4
Valle de La Pascua	1,84	+ 4
Promedio	1,96	+ 4

TABLE 5
Concentración de canavanina y título hemaglutinante en las globulinas de cinco genotipos de *Canavalia ensiformis*

Genotipo	Canavanina %	Título hemaglutinante
U-02	0,08	+ 6
Yaracuy	0,52	+ 5
Tovar	0,02	+ 5
Original	0,11	+ 5
Valle de La Pascua	0,11	+ 4
Promedio	0,17	+ 5

TABLE 6
Concentración de canavanina y título hemaglutinante en las AIG de cinco genotipos de *Canavalia ensiformis*

Genotipo	Canavanina %	Título hemaglutinante
U-02	0,64	+ 1
Yaracuy	0,22	+ 1
Tovar	0,00	+ 1
Original	0,26	+ 0
Valle de La Pascua	0,00	+ 1
Promedio	0,22	+ 1

La concentración de canavanina en las albúminas de los diferentes genotipos osciló entre 0,79% y 3,65% con un promedio de 1,96%; en las globulinas estuvo entre 0,02% y 0,52% con una media de 0,17% y en las AIG varió entre 0,00% y 0,64% con 0,22% de promedio. El mayor contenido de canavanina, en las albúminas, podría deberse a una retención de este aminoácido durante la diálisis aplicada en el proceso de separación de esta fracción.

Al comparar los valores de canavanina con los obtenidos por Ramírez y Ortiz (5) en las harinas de estos genotipos (2,02%-4,86%), se observa que la concentración de este compuesto es menor en las distintas fracciones proteicas que en las harinas, por lo que se considera que el proceso de fraccionamiento proteico conlleva a una disminución de este aminoácido, lo cual sería deseable.

De todos los genotipos estudiados, las fracciones proteicas del genotipo Tovar, contienen el menor porcentaje de canavanina: (0,00%-0,79%), por lo cual podría suponerse que este genotipo presenta una mejor calidad nutricional respecto a este compuesto, que los otros genotipos estudiados. En tanto que las mayores proporciones las presentan las albúminas del Original (3,65%), las globulinas del Yaracuy (0,52%) y las AIG del U-02 (0,64%).

En relación con el título hemaglutinante, podemos señalar que en las albúminas de los diferentes genotipos, al igual que en las globulinas, este factor varió entre +4 y +6, siendo los valores promedios: +4 y +5 respectivamente, correspondiendo el valor más alto al U-02, mientras que en las AIG el contenido fue menor, mostrando valores entre 0 y 1 con una media de +1.

Al comparar los resultados correspondientes al título hemaglutinante con los reportados por Ramírez y Ortiz (5) en harinas de estos genotipos (+2 - +5), se aprecian valores ligeramente menores de título hemaglutinante en las harinas que en las fracciones proteicas albúminas y globulinas; quizás esto pueda deberse a que la concaavalina A, que es una proteína globular, se retiene o concentra en el proceso de fraccionamiento proteico. Sin embargo, se debe señalar que la prueba empleada es cualitativa, es decir sólo indica la presencia o no de concaavalina A en una muestra.

Digestibilidad proteica *in vitro*

La digestibilidad proteica *in vitro* de las fracciones proteicas del grano de cinco genotipos de canavalia y de la caseína se muestra en la Tabla 7. Estos resultados presentaron diferencias estadísticamente significativas entre los genotipos. Al observar los valores promedios de este parámetro, en las diferentes fracciones, podemos notar que las globulinas son las proteínas que presentan mayor digestibilidad promedio (65,20%), seguidas por las albúminas (58,90%) y por las AIG (37,28%). Estos valores promedios fueron mayores que los reportados por Gómez (2), quien encontró mayor digestibilidad proteica *in vitro* para las albúminas que para las globulinas. Estas discrepancias en los resultados pueden ser atribuidas a las condiciones bajo las cuales se realizaron cada uno de los ensayos, así como a las características de las enzimas usadas.

TABLA 7

Digestibilidad proteica *in vitro* de las fracciones proteicas del grano de cinco genotipos de *Canavalia ensiformis*

Genotipos	Digestibilidad <i>in vitro</i> (%) *		
	Albúminas	Globulinas	AIG
U-02	62,97 ^a	63,83 ^c	41,71 ^a
Yaracuy	55,98 ^b	64,81 ^b	33,64 ^b
Tovar	52,64 ^c	71,49 ^a	35,12 ^b
Original	61,07 ^a	61,28 ^d	33,62 ^b
Valle de La Pascua	61,77 ^a	64,58 ^c	42,33 ^a
Promedio	58,90	65,20	37,28

* Gramos de proteína digerida / 100 g de proteína

Los promedios en columna que presentan letras comunes no alcanzan diferencias significativas entre sí al nivel del 5%.

La prueba de medias reveló que las albúminas de los genotipos U-02 (62,97%), Valle de La Pascua (61,77%) y Original (61,07%) tienen una digestibilidad similar, la cual es superior a la del genotipo Yaracuy (55,98%) y Tovar (52,64%), cuyos valores difieren significativamente entre sí y de los anteriores. En tanto que en las globulinas, la mayor digestibilidad (71,49%) le correspondió al genotipo Tovar y la menor (61,28%) a la del Original, siendo todos los valores estadísticamente diferentes, excepto los de las canavalias Valle de La Pascua (64,58%) y U-02 (63,83%) que no alcanzaron diferencias significativas entre sí. Igualmente, la digestibilidad de las AIG de los genotipos Valle de La Pascua (42,33%) y U-02 (41,71%) no alcanzó diferencias y fue superior a la del Tovar (35,12%), Yaracuy (33,64%) y Original (33,62%), cuyos valores tampoco difirieron al nivel del 5%.

La mayor digestibilidad de las albúminas (62,97%) la presentó el genotipo U-02, la de las globulinas (71,49%) el Tovar y la de las AIG (42,33%) el genotipo Valle de La Pascua. Asimismo, la menor digestibilidad de las albúminas

(52,64%) la mostró la canavalia Tovar y la de las globulinas (61,28%) y AIG (33,62%) la Original. Entre los genotipos analizados se destacaron Valle de La Pascua y U-02 por tener alta digestibilidad de sus fracciones proteicas.

La digestibilidad mostrada por las albúminas y globulinas de los genotipos analizados es mayor a la de las harinas crudas, las cuales de acuerdo a lo reportado por Ramírez y Ortiz (5), presentaron en promedio 49,87% de digestibilidad, es decir, estas fracciones son más digeribles que las harinas crudas.

CONCLUSIONES

Al fraccionar las proteínas del grano de los genotipos de *Canavalia* en estudio, se observó que las albúminas y globulinas son las fracciones proteicas más abundantes, presentando estas últimas un contenido proteico mayor, lo que indica que se obtuvieron más puras. La determinación de los factores antinutricionales reveló que en las albúminas hay una mayor concentración de canavanina, sin embargo con respecto al título hemaglutinante no hay diferencias entre estas fracciones. Cabe resaltar que las fracciones proteicas del genotipo Tovar presentaron la menor cantidad de este aminoácido por lo que se puede decir que este genotipo presenta una mayor calidad nutricional, respecto a este compuesto que los otros genotipos analizados. La digestibilidad proteica *in vitro* indicó que las globulinas presentaron mayor digestibilidad que las otras fracciones, asimismo se apreció que las albúminas y globulinas de estos genotipos presentaron mayor digestibilidad que las harinas. En general las globulinas son la fracción proteica de mejor calidad nutricional, debido a que su contenido proteico fue mayor, presentó menos cantidad de canavanina y tuvo una mayor digestibilidad proteica.

AGRADECIMIENTO

Los autores expresan su reconocimiento al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico (C.D.C.H.), por el financiamiento de esta investigación (Proyecto 01.37.2873.92) y agradecen al Ingeniero Agrónomo Julio Vera, la donación de las muestras de *Canavalia*.

REFERENCIAS

1. Desphande S. Food Legumes: Chemistry and Technology. Chapter 3. En: Advances in Cereal Science and Technology. Vol. X,Y. Pomeranz. Ed Am Assoc Cereal Chemists. St. Paul MN. 1990: 147-241.
2. Gómez A. Efectos de tratamientos físicos y químicos sobre los factores antinutricionales presentes en las semillas de *Canavalia ensiformis*. Digestibilidad *in vivo* e *in vitro*. Tesis de Doctorado. Universidad Central de Venezuela. Caracas. 1990:163.
3. Jaffé W. Leguminosas de consumo humano. Revista Alcance No. 35: 88-93. Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela. Maracay. 1986.

4. Bressani R, Gómez R, García A y Elias L. Chemical composition amino acid content and protein quality of *Canavalia* spp. seeds. *J Sci Food Agric*. 1987;40(1):17-23.
5. Ramirez A y Ortiz de Bertorelli L. Características químicas y nutricionales del grano de cinco (5) genotipos de *Canavalia ensiformis*. *Arch Latinoamer Nutr*. 1997;47(3): 234-236.
6. Association of Official Analytical Chemist (A.O.A.C.). Official Methods of Analysis. 13th Ed. Washington D.C. 1990:1298.
7. Rodríguez B y Martín E. Análisis de alimentos. Tomo I. Organización de Bienestar Estudiantil (O.B.E.). Universidad Central de Venezuela. 1980;396.
8. Paulis J y Wall J. Comparison of the proteins composition of selected corns and their wild relatives Teosinte and *Tripsacum*. *J Agric Food Chem*. 1977;25(2):2265-2270.
9. Bell E. Canavanine and related compounds in leguminosae. *The Biochemical Journal*. 1958;70:617.
10. Jaffé W. Hemaglutinins toxic constituents of plant foodstuffs. Ed. I.E. Liener Academic Press. New York. 1969;69-101.
11. Akesson y Stahman. A pepsin pancreatin digest index of protein quality evaluation. *J Nutrition* 1967;83:257-261.
12. Ortiz de Bertorelli L. Extracción y caracterización de las zeínas del grano de diez cultivares de maíz. *Arch Latinoamer Nutr*. 1993;42(3): 248-253.
13. Molina M y Bressani R. Protein starch extraction and nutritive value of the jack bean and jack bean protein isolate. En: Nutritional aspects of common beans and other legume seeds as animal and human foods. Ed. Jaffé, W.G. *Arch Latinoamer Nutr*. Caracas, Venezuela. 1975.
14. Carabaño J. Granos de *Canavalia ensiformis* en raciones para gallinas ponedoras. V Ciclo de Conferencias sobre Producción Avícola. Maracay, Venezuela. 1985.
15. Angulo J, Carre B, Harcoast J y Picard M. Composición química y papel de aminoácidos del grano de *Canavalia ensiformis* como recurso para la alimentación animal. XXXVI Convención Anual de ASOVAC. Suplemento No. 1. Caracas, Venezuela. 1986;153-163.
16. Duranti M y Carletti P. Amino acid composition of seed proteins of *Lupinus albus*. *J Agric Food Chem*. 1979;27(5): 977-978.
17. Sathe S y Salunkhe D. Solubilization and electrophoretic characterization of the great Northern Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) proteins. *J Food Sci*. 1981;46(5):82-87.
18. Marquez U y Jajolo F. Composition and digestibility of albumins and glutelins from *Phaseolus vulgaris*. *J Agric Food Chem*. 1981;29:1068-1074.
19. Kawakishi S y Namiki M. Albumins proteins of eight edible grain legume species. Electrophoretic patterns and amino composition. *J Agric Food Chem*. 1982;30:620-622.
20. Oomah B y Bushuk W. Characterization of lupine proteins. *J Food Sci* 1983;48(1):38-41.
21. Theertha D. Characterization of sunflower albumins. *Lebensmittel-Wissenschaft-und-Technologie*. 1987;20(1):22-25.

Recibido: 11-12-1998

Aceptado: 30-09-1999