

EVALUACION NUTRICIONAL DE CONCENTRADOS PROTEICOS DE POROTOS (*Phaseolus vulgaris*) Y DE LENTEJAS (*Lens esculenta*)

Huda Kaba¹ y Juan C. Sanahuja¹

Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de
Buenos Aires, Argentina

RESUMEN

Se estudió la composición porcentual y el valor nutritivo de harinas de porotos blancos (*Phaseolus vulgaris*) y de lentejas (*lens esculenta*), y de sus concentrados proteicos, preparados mediante extracción alcalina y posterior precipitación de las proteínas al pH isoelectrico.

Según pudo determinarse, el contenido de aminoácidos azufrados por gramo de nitrógeno es menor en los concentrados que en las harinas respectivas, pero el contenido de lisina y treonina es similar.

El concentrado de porotos blancos tiene menor valor biológico que la harina, pero su digestibilidad es superior a pesar de tener igual concentración de inhibidores de tripsina. La digestibilidad mejora notablemente por calentamiento, pero no supera valores de 81⁰o, aun después de someter las muestras al proceso de autoclave. Al suplementar estas últimas con metionina se obtiene un valor biológico promedio de 83.

El concentrado de lentejas también tiene menor valor biológico que la harina, pero la digestibilidad es alta para ambas muestras (91⁰o) y no varía

Recibido: 14-3-77.

1 Miembros del Departamento de Bromatología y Nutrición Experimental, Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.

con el calentamiento. Se verificó la ausencia de inhibidores de tripsina. Al suplementar estas muestras con metionina se obtiene un valor biológico promedio de 63, debido al bajo contenido de triptofano, el segundo aminoácido limitante.

Se estableció, asimismo, que a pesar de su valor biológico inferior, debido a su alto contenido de lisina y treonina, los concentrados tienen igual potencial como complemento de cereales que las harinas, con la ventaja de que permiten una suplementación más efectiva sin incrementar la relación leguminosa-cereales.

INTRODUCCION

Las leguminosas son productos de alto contenido proteico que pueden servir para la producción de concentrados a fin de enriquecer otros alimentos. La obtención de concentrados permite la eliminación de la fibra y de la mayor parte de los carbohidratos, y esto hace posible el enriquecimiento en calorías y la suplementación de alimentos para la infancia.

Son muchos los recursos tecnológicos usados para la obtención de concentrados proteicos (1,2). Los productos obtenidos pueden diferir en su composición de aminoácidos y en su contenido en factores antinutricionales, según la variedad de la leguminosa y el método de obtención utilizado (3).

En este trabajo se estudió la composición porcentual y el valor nutritivo de las harinas y de las fracciones proteicas aisladas de dos especies de leguminosas: porotos blancos (*Phaseolus vulgaris*) y lentejas (*Lens esculenta*). Se investigó también el efecto de la cocción y de la suplementación sobre el valor nutritivo de las muestras, y su poder de complementación de una proteína típicamente deficiente en lisina, el gluten.

MATERIALES Y METODOS

Se utilizaron harinas de porotos blancos (*Phaseolus vulgaris*) y de lentejas (*Lens esculenta*) cultivadas en la provincia de Salta, Argentina. Las muestras fueron facilitadas por un establecimiento encargado de la producción y comercialización de harinas de leguminosas para la preparación de sopas de cocción rápida. El procesamiento en fábrica de las semillas comprende el descascarado, desecado y posterior molienda de los granos hasta que la harina

pasa una malla de 100 mesh.

Los concentrados proteicos se obtuvieron por extracción con solución alcalina, método que permite obtener altos rendimientos y una fracción representativa de la proteína total (1,2). El método utilizado se describe en la Figura 1.

Las condiciones usadas para precipitar las proteínas se determinaron previamente en el laboratorio como aquéllas en las que se obtenían mayores rendimientos. La proteína de porotos se precipitó a un pH de 3.9 y la proteína de lentejas a un pH de 4.2.

La fracción proteica precipitada se separó por centrifugación, se lavó dos veces con 3 ml de solución acuosa llevada al pH isoeléctrico correspondiente y, luego de separada por centrifugación, se secó en estufa al vacío y se guardó en un desecador.

Para obtener suficiente cantidad de muestra para los experimentos biológicos, se utilizó el mismo procedimiento seguido en la planta piloto.

Luego, las muestras de harinas y los concentrados proteicos así obtenidos se cocinaron en dos formas diferentes:

- a) En autoclave, durante 20', a una atmósfera de presión (120.7°C).
- b) Cocción en recipiente abierto a 95-100°C durante 20 minutos.

En ambos casos se usaron tres volúmenes de agua por peso de harina, y el material resultante se secó en estufa al vacío, a 50°C.

Métodos Analíticos

El contenido de humedad, proteína total, grasa y cenizas se determinó por duplicado según los métodos oficiales de la AOAC (4). La proteína se calculó multiplicando el contenido en nitrógeno por el factor 6.25.

El contenido de aminoácidos de las muestras se determinó mediante un analizador automático de aminoácidos², basado en el procedimiento de Spackman, Stein y Moore (5), modificado para

2 Model K 8000, Phoenix Precision Instruments Co., Philadelphia, Pa., U.S.A.

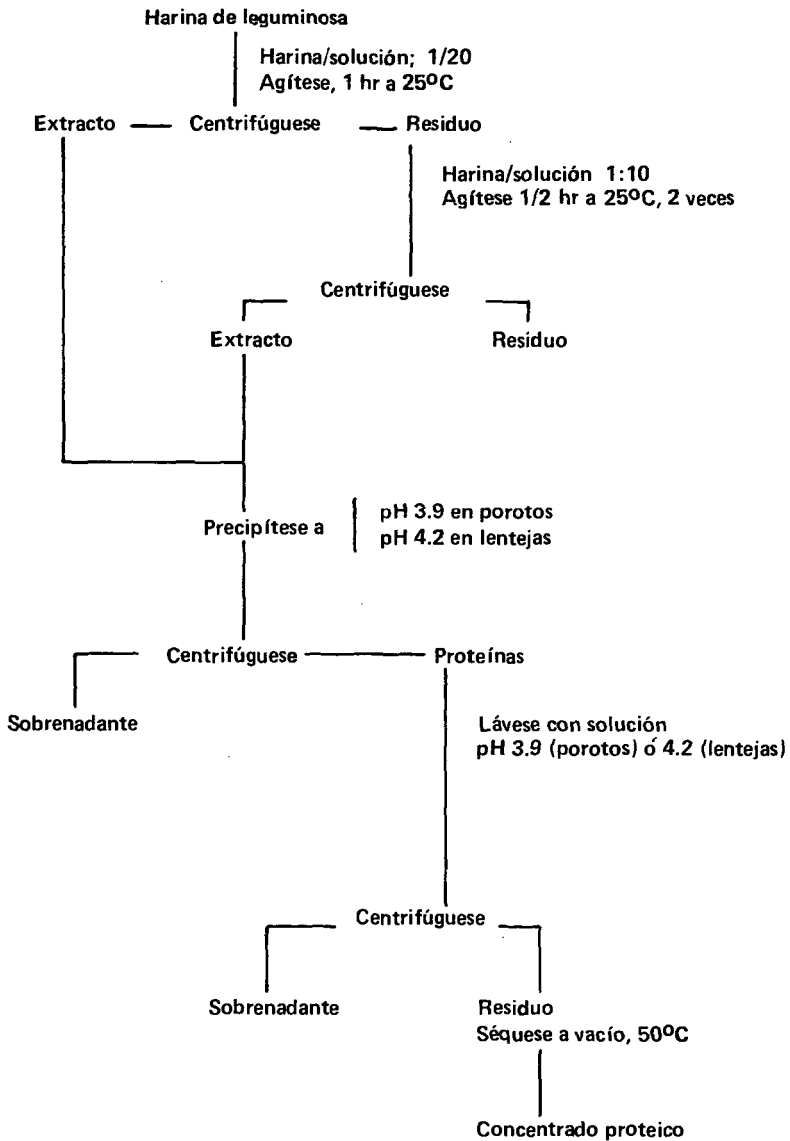


FIGURA 1

Fraccionamiento de las proteínas de harinas de porotos blancos (*Phaseolus vulgaris*) y de harina de lentejas (*Lens esculenta*)

permitir el uso de resinas esféricas. La cistina se analizó como ácido cisteico, previa oxidación con ácido per fórmico (6) y el triptofano usando el método cromatográfico de Lunven (7) previa hidrólisis alcalina. Los distintos métodos de hidrólisis utilizados han sido descritos previamente (8).

El contenido de aminoácidos esenciales se determinó también por métodos microbiológicos, usando el procedimiento descrito por Basualdo, Carrera y Sanahuja (9). Los valores hallados con ambos métodos no se diferencian en forma significativa, por lo que en este trabajo se incluyen solamente los determinados por el método cromatográfico.

La lisina disponible se determinó por el método de Carpenter modificado (10), y la concentración de factores antitripticos se llevó a cabo por el método de Kakade, Simmons y Liener (11), usando caseína como sustrato de la tripsina.

Ensayos Biológicos

Utilización proteica neta (NPU)

La utilización proteica neta (NPU) se determinó según las técnicas de Miller y Bender (12), usando ratas albinas de la cepa Wistar. Los pesos iniciales de los animales estaban comprendidos entre 45 y 55 g, y el peso promedio entre los grupos no difería en más de 1 g.

Los animales se mantuvieron en jaulas individuales y se les suministró agua y dieta *ad libitum*.

Las dietas se prepararon diluyendo la proteína de las muestras con dextrina hasta obtener un nivel final calculado de 10⁰/o de proteína; luego se suplementaron con 15⁰/o de aceite de maíz, 5⁰/o de mezcla de minerales (13), 0.5⁰/o de mezcla de vitaminas liposolubles (13), 0.25⁰/o de mezcla de vitaminas hidrosolubles, y 0.15⁰/o de citrato de colina.

Los ensayos se hicieron con grupos de cuatro animales cada uno. Las dietas se ensayaron por triplicado, usando paralelamente un grupo de cuatro animales alimentados con la dieta libre de proteínas, pero reemplazando la harina o concentrado proteico por un peso igual de dextrina.

La digestibilidad se calculó según la fórmula:

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

donde I – Nitrógeno ingerido
 F – Nitrógeno fecal
 Fk – Nitrógeno fecal del lote libre de proteínas.

El valor biológico se calculó como:

$$VB = \frac{NPU}{D}$$

Ensayos de Suplementación y de Complementación

Se utilizó L-metionina para la suplementación de las harinas y de los concentrados proteicos. El aminoácido se agregó a las harinas hasta un nivel del 0.4^o/o y a los concentrados hasta un nivel del 1.2^o/o, lo que representa un aumento aproximado de 100 mg de L-metionina por g de N en las dietas finales. Los valores reales de los aminoácidos azufrados se muestran más adelante (Tabla 4).

Los ensayos de complementación se realizaron con gluten y la muestra correspondiente. En la mezcla final, 70^o/o de la proteína provenía del gluten y 30^o/o de la harina o del concentrado proteico. Esta mezcla tiene un contenido relativamente bajo en lisina (Tabla 4), y la complementación ideal requeriría aumentar la proporción de leguminosa para obtener un valor biológico mayor.

Las dietas para los ensayos biológicos se prepararon como se describe anteriormente, con un nivel de 10^o/o de proteína en la dieta final.

RESULTADOS Y DISCUSION

El método utilizado permitió la extracción del 86^o/o \pm 2^o/o del nitrógeno presente en la harina, pero no todo el nitrógeno extraído precipita luego al pH de mínima solubilidad de las fracciones proteicas. Los rendimientos finales, expresados como por ciento del nitrógeno obtenido como concentrado proteico respec-

to del original en la harina, son de $62 \pm 3\%$ para el concentrado proteico de porotos (CPP) y de $64 \pm 3\%$ para el concentrado proteico de lentejas (CPL). Estos rendimientos se obtuvieron trabajando en escala piloto, siendo un poco superiores cuando las extracciones se realizaron en el laboratorio.

En la Tabla 1 se presenta la composición porcentual de las muestras estudiadas. Según se observa, el contenido de cenizas baja considerablemente en los concentrados y el contenido en proteínas se eleva aproximadamente de 23% en la harina de porotos (HAP) a 75% en el CPP, y de 26% en la harina de lentejas (HAL) a 83% en el CPL.

TABLA 1
COMPOSICION PORCENTUAL DE LAS MUESTRAS
(g/100 g)

	HAP	CPP	HAL	CPL
Humedad	9.70	6.70	10.40	3.40
Cenizas	4.30	1.82	2.95	1.60
Extracto etéreo	1.18	—	1.28	—
Proteína (N x 6.25)	23.12	75.00	26.37	83.75

HAP = Harina de porotos (*Phaseolus vulgaris*).
 CPP = Concentrado proteico de porotos.
 HAL = Harina de lentejas (*Lens esculenta*).
 CPL = Concentrado proteico de lentejas.

La Tabla 2 muestra los resultados del análisis aminoacídico y el contenido de lisina disponible de las muestras luego de 4 meses de almacenamiento a temperatura y humedad ambiente (aproximadamente 20°C y 80% de saturación). El contenido de lisina disponible en todos los casos excede de 95% de la lisina total, lo que indica muy poca pérdida del aminoácido durante este tiempo de almacenamiento en las condiciones usadas.

Como lo revelan los datos, la composición de las harinas y de los concentrados proteicos difirió en varios aminoácidos, por lo que los concentrados no son representativos de la proteína total. Esta diferencia ya ha sido encontrada por otros autores (3,14).

TABLA 2

COMPOSICION AMINOACIDICA DE LAS HARINAS Y DE LOS
CONCENTRADOS PROTEICOS DE POROTOS Y LENTEJAS
(mg/g N)

Aminoácido	HAP*	CPP	HAL	CPL
Isoleucina	357	372	389	341
Leucina	480	606	488	627
Lisina	482	468	428	443
Metionina	62	67	51	52
Cistina	69	48	47	32
Azufrados totales	131	115	98	84
Fenilalanina	356	407	327	415
Tirosina	206	276	254	270
Aromáticos totales	562	683	581	685
Treonina	238	293	238	234
Triptofano	64	77	45	44
Valina	297	281	315	352
Arginina	375	351	493	457
Histidina	175	256	162	137
Alanina	260	275	271	287
Acido aspártico	768	814	765	913
Acido glutámico	992	1,016	1,080	1,198
Glicina	286	322	262	278
Prolina	248	262	290	301
Serina	366	407	332	380
Lisina disponible	461	446	395	420

* Para abreviaturas, véase Tabla 1.

El contenido de aminoácidos azufrados es menor en los concentrados proteicos que en las harinas respectivas, debido al menor contenido en cistina de los concentrados (Tabla 2).

Resultados comparables fueron constatados por otros autores en las fracciones aisladas de leguminosas (14,15).

Se puede observar que el contenido de aminoácidos azufrados es apreciablemente más bajo en las lentejas que en los porotos, lo que indica un menor valor biológico de las lentejas por ser éstos

los aminoácidos limitantes. Ello se evidenció después en los ensayos biológicos.

Los aminoácidos limitantes en segundo lugar probablemente sean treonina y triptofano, que se encuentran en mayor concentración en CPP que en HAP y en concentración semejante en CPL y HAL. La concentración de lisina, aminoácido muy importante en caso de usar estas muestras para la suplementación de cereales, es prácticamente igual cuando se compara el concentrado con la harina respectiva.

Con el fin de estudiar el valor nutritivo de las muestras, se determinó la utilización proteica neta (NPU), digestibilidad, valor biológico y concentración de factores antitripticos (Tabla 3). Estos ensayos se hicieron en las muestras crudas, autoclaveadas 20' a 1 atm de presión (120.7°C) o cocidas 20' a 95–100°C.

La harina de porotos cruda tiene baja utilización proteica neta (NPU) y baja digestibilidad, así como una concentración alta de factores antitripticos. Al someterla al autoclave se destruyen totalmente estos factores observándose un aumento en la digestibilidad y en NPU, pero el valor biológico permanece inalterado, lo cual indicaría que el mayor valor de NPU se debe sólo al aumento de digestibilidad de la proteína.

Luego de la cocción en recipiente abierto se observa también un aumento semejante en la digestibilidad de HAP, aunque en este caso se verificó la presencia de factores antitripticos residuales.

Jaffé y Flores (16) han verificado la ausencia de correlaciones entre digestibilidad de porotos y su concentración de inhibidores enzimáticos.

El CPP tiene un NPU un poco menor que la HAP, pero su digestibilidad es mayor a pesar de que los factores antitripticos se aíslan en concentración semejante a la hallada para la HAP. Es probable que el menor valor biológico obtenido se haya debido a la menor concentración de aminoácidos azufrados que acusa el CPP comparado con la HAP.

El proceso de autoclave aumenta algo más la digestibilidad del CPP, hasta obtener valores semejantes a los obtenidos para la HAP también sometida al autoclave.

Las muestras de lentejas tienen menor valor biológico que las de porotos blancos debido a su menor concentración en aminoácidos azufrados, pero la digestibilidad es muy buena y no contienen factores antitripticos. El tratamiento en el autoclave y la cocción en recipiente abierto no modifican apreciablemente las

TABLA 3
VALOR NUTRITIVO DE LAS MUESTRAS DE LEGUMINOSAS ANALIZADAS

Muestras	NPU ₁₀ *	Digestibilidad de la proteína	Valor biológico calculado	UTI/mg proteína
HAP***	40.4 ± 1.9 [●]	67.0 ± 2.2	60	115
HAP autoclaveada [■]	50.0 ± 1.0	81.9 ± 1.3	62	±
HAP cocida [▲]	47.8 ± 1.0	80.8 ± 1.7	59	28
CPP	37.2 ± 1.7	75.5 ± 2.7	50	104
CPP autoclaveada	42.0 ± 1.4	82.0 ± 1.4	52	±
HAL	34.4 ± 1.0	89.2 ± 1.3	39	±
HAL autoclaveada	35.0 ± 3.0	90.5 ± 1.7	40	±
HAL cocida	33.7 ± 2.7	91.2 ± 1.5	37	±
CPL	30.2 ± 1.2	90.0 ± 1.0	34	±
CPL autoclaveada	30.3 ± 2.5	91.0 ± 1.8	33	±

* Utilización proteica neta, 10⁰/o de proteína en la dieta.

** Unidades de tripsina inhibidas.

*** Para abreviaturas, véase Tabla 1.

● Media ± desviación estándar. La media corresponde a los valores obtenidos con 3 grupos.

■ 20' a 1 atm.

▲ 20' a 95 - 100°C.

muestras (Tabla 3).

En este caso también se observa menor NPU y menor valor biológico del CPL comparado con HAL, debido a un menor contenido de aminoácidos azufrados.

Con el fin de estudiar las posibilidades de las harinas y de los concentrados para uso en otros alimentos, se realizaron algunos ensayos de suplementación con metionina y de complementación con una proteína tipo deficiente en lisina, el gluten. Los resultados obtenidos se resumen en la Tabla 4.

Se incluyó el contenido de lisina disponible de las muestras, pues la concentración real de este aminoácido es importante para realizar el cómputo químico en las mezclas con proteínas deficientes en lisina. Para realizar el cómputo químico se usó como proteína patrón la recomendada por el Comité Conjunto de Expertos FAO/OMS en 1973 (17).

La HAP y el CPP suplementados con metionina tienen un cómputo químico y un NPU elevados, lo que indica que su composición en otros aminoácidos esenciales es equilibrada. Debido a que tanto la harina de lentejas como el concentrado proteico de la misma tienen un contenido de triptofano muy bajo, la suplementación con metionina no es tan eficiente, y el cómputo químico con el triptofano como segundo aminoácido limitante y el NPU, son menores en comparación con los valores obtenidos para los porotos.

En los ensayos de complementación con gluten (Tabla 4), en los que un 70% de la proteína de la mezcla proviene del gluten y un 30% de la muestra de leguminosa respectiva, las proteínas se complementan de tal forma que el cómputo químico y el NPU de las mezclas es semejante para todas las muestras, siendo lisina el aminoácido limitante según el patrón utilizado. Por lo tanto, a pesar del menor valor biológico de la harina y concentrado proteico de lentejas, las mezclas de estas muestras con gluten tienen un valor biológico semejante a las mezclas en que se utilizó harina de porotos y concentrado proteico de porotos. Sería de esperar que con el uso de cereales cuyo contenido en lisina es superior al del gluten se obtuvieran mezclas con valor biológico superior. También los concentrados, cuyo contenido en aminoácidos azufrados es menor que el de las harinas, tienen igual potencial como complemento de cereales. Esto se debe a que su contenido en lisina y treonina, los aminoácidos deficientes en los cereales, es igual al de las harinas, con la ventaja de que permiten un suplementación más efectiva sin incrementar tanto la relación

TABLA 4
ENSAYOS DE SUPLEMENTACION DE LAS MUESTRAS ANALIZADAS

Muestras	A.A. azufrados totales mg/g N	Lisina disponible mg/g N	Cómputo químico*	A.A. limitante	NPU ₁₀	VB calculado
HAP autoclaveada**	131	451	60	Azuf. totales	50	62
CPP autoclaveada	115	416	52	Azuf. totales	42	52
HAL	98	395	44	Azuf. totales	34	39
CPL	84	420	38	Azuf. totales	30	34
Gluten (G)	234	123	33	Lisina	36	38
HAP autoclaveada + 0.4 ^o /o L met.	239	451	95	Treonina	67	83
CPP autoclaveada + 0.2 ^o /o L met.	275	416	90	Valina	68	84
HAL + 0.4 ^o /o L met.	193	395	74	Triptofano	60	67
CPL + 0.2 ^o /o L met.	237	420	74	Triptofano	58	65
Mezcla G-HAP autoclaveada***	203	224	66	Lisina	60	68
Mezcla G-CPP autoclaveada	198	220	65	Lisina	63	70
Mezcla G-HAL	193	210	62	Lisina	58	64
Mezcla G-CPL	189	215	63	Lisina	61	68

* Calculado usando la proteína patrón FAO/OMS, 1973.

** Para abreviaturas, véase la Tabla 1.

*** Las mezclas finales contienen 70^o/o de proteína proveniente de gluten y 30^o/o de la muestra usada en cada caso.

legumbres-cereales.

Teniendo en cuenta la capacidad de complementación similar y dado que los factores antitripticos no se destruyen totalmente en la cocción en recipiente abierto (16), y que algunos se afslan en los concentrados proteicos, sería aconsejable que en los casos en que por alguna razón no pudiera asegurarse su destrucción, se utilizaran en la suplementación de alimentos infantiles leguminosas de buena digestibilidad y bajo contenido en factores antinutricionales, aunque su contenido en aminoácidos azufrados fuese un tanto menor.

SUMMARY

NUTRITIONAL VALUE OF BEANS (*Phaseolus vulgaris*) AND LENTILS (*Lens esculenta*) PROTEIN CONCENTRATES

The composition and nutritive value were determined in navy bean meal (*Phaseolus vulgaris*) and lentil meal (*Lens esculenta*), and in their respective protein concentrates obtained through extraction followed by isoelectric precipitation.

Sulfur amino acids per gram of nitrogen were lower in the concentrates than in the meals, while there was no difference for lysine and threonine.

The white bean protein concentrate had a lower biological value than the meal but better digestibility, although trypsin inhibitor concentration was unchanged. Digestibility greatly improved with heating but it did not increase beyond 81% even after autoclaving.

Autoclaved samples supplemented with methionine reached a biological value of 83.

The lentil protein concentrate also had a lower biological value than the meal but digestibility was high for both samples (91%) and remained unchanged after heating. Trypsin inhibitors were absent. After supplementing with methionine, a biological value of only 63 was obtained, due to the low level of tryptophan, the second limiting amino acid.

In spite of the concentrates' lower biological value, it was proved that they equalled the meals' potential for complementing cereal, as their content in lysine and threonine is high. The concentrates have the additional advantage of allowing effective supplementation without increasing the legume-cereal ratio.

BIBLIOGRAFIA

1. Smith, A.R. Vegetable protein isolates. En: **Processed Plant Protein Foodstuffs**. A.M. Altschul (Ed.). New York, Academic Press Inc., 1958, p. 249.
2. Evans, R.J. & M.H. Kerr. Extraction and precipitation of nitrogenous constituents of dry navy beans. **J. Agr. Food Chem.**, **11**: 26-29, 1963.
3. Moraes e Santos, T. & J.F. Dutra de Oliveira. Valor nutritivo de frações proteicas isoladas do feijão (*Phaseolus vulgaris*). **Arch. Latinoamer. Nutr.**, **22**: 574-560, 1972.
4. Association of Official Agricultural Chemists. **Official Methods of Analysis of the AOAC**. 9th ed. Washington, D.C., The Association, 1960, 832 p.
5. Spackman, D.H., W.H. Stein & S. Moore. Automatic recording apparatus for use in the chromatography of amino acids. **Anal. Chem.**, **30**: 1190-1206, 1958.
6. Moore, S. On the determination of cysteic acid. **J. Biol. Chem.**, **238**: 235-237, 1963.
7. Lunven, P. **Le Tryptophane dans l'Alimentation Intertropicale; Méthodes d'Analyse et Intérêt Nutritionnel**. Thèses présentées à la Faculté de Pharmacie de L'Université de Paris, 1968.
8. Pellett, P. L. & H. Kaba. Carcass amino acids of the rat under conditions of determination of net protein utilization. **J. Nutr.**, **102**: 61-68, 1972.
9. Basualdo, N.R., P.A. Carrera & J.C. Sanahuja. Harina de girasol. I. Evaluación de la calidad biológica de sus proteínas. Influencias del proceso tecnológico. **Arch. Latinoamer. Nutr.**, **22**: 65-82, 1972.
10. Raghavendar Rao, S., F.L. Carte & V.I. Frampton. Determination of available lysine in oilseed meal protein. **Anal. Chem.**, **35**: 1927-1930, 1963.
11. Kakade, M.L., N. Simmons & I.E. Liener. An evaluation of natural vs. synthetic substrates for measuring the antitryptic activity of soybeans samples. **Cereal Chem.**, **46**: 518-525, 1969.
12. 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.
13. Harper, A.H. **Review of Physiological Chemistry**. 11th ed. Los Altos, California, Lange Medical Publications, 1967, p. 270-271.
14. Wolf, W.J. Soybean proteins: their functional, chemical and physical properties. **J. Agr. Food Chem.**, **18**: 969-976, 1970.
15. Dutra de Oliveira, J.E. Studies on the nutritive value of beans. En: **Nutritional Aspects of Common Beans and Other Legume Seeds as Animal and Human Foods**. Werner G. Jaffé (Ed.) Proceedings of a Meeting held in Ribeirão Preto, November 6-9, 1973. Caracas, Venezuela, Archivos Latinoamericanos de Nutrición, 1975, p. 199-209.
16. Jaffé, Werner G. & M.E. Flores. La cocción de frijoles (*Phaseolus vulgaris*). **Arch. Latinoamer. Nutr.**, **25**: 79-90, 1975.

17. Joint FAO/WHO Ad Hoc Expert Committee. **Report on Energy and Protein Requirements.** Geneva, World Health Organization, 1973. (WHO Technical Report Series No. 522; FAO Nutrition Meetings Report Series No. 52).