

21  
28j



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**

**FACULTAD DE QUIMICA**

**ELABORACION DE UN SUSTITUTO LACTEO DES -  
HIDRATADO, A PARTIR DE UN CONCENTRADO  
PROTEINICO DE ARVEJON, PARA ALIMENTACION  
INFANTIL.**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE,  
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO**

**P R E S E N T A :**

**MARIA ISABEL ESTRADA MENDEZ**



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## I N D I C E

	PAG.
INTRODUCCION . . . . .	1
DISEÑO EXPERIMENTAL A. METODOLOGIA. . . . .	10
B. METODOS DE ANALISIS . . . . .	12
C. MATERIALES Y EQUIPO . . . . .	14
RESULTADOS Y ANALISIS DE RESULTADOS . . . . .	15
CONCLUSIONES Y SUGERENCIAS . . . . .	43
BIBLIOGRAFIA . . . . .	45
APENDICE A . . . . .	51
APENDICE B . . . . .	55

## I N T R O D U C C I O N

Sabemos actualmente que la falta de disponibilidad de leche - en México se ha agravado en los últimos años, a pesar de la - existencia de programas de apoyo para el incremento de la pro ducción lechera así como importaciones de leche en polvo y de vacas de raza lechera (1,2), (cuadros 1 y 2).

La FAO marca como mínimo para un país en desarrollo un consumo per cápita de leche de 500 ml/día/hab., cantidad que cubre con holgura las necesidades de los aminoácidos esenciales del ser humano (2), sin embargo en México el consumo per cápita - ha mostrado un descenso notable, en 1980 fue de 343 ml/día/ - hab. y en 1986 disminuyó a 307 ml/día/hab. (cuadro 3).

Además esto aunado a la escasez de alimentos de origen animal como carne, huevos y a una alimentación poco variada y equili brada, trae como consecuencia una escasez crónica de proteí-- nas (3), dando por resultado que personas de todas edades pre senten síntomas de deficiencia, observándose mayor incidencia en niños de edad preescolar, siendo esta etapa un período crí tico en el crecimiento y desarrollo humano (4,5).

Recientemente se han hecho varios intentos por mejorar la dis ponibilidad de las proteínas en regiones pobres y densamente pobladas en donde las proteínas de origen vegetal pueden ser una alternativa adecuada para combatir la escasez de proteí-- nas (3).

Las proteínas vegetales no pueden compararse favorablemente - con las proteínas animales, ya que son deficientes en uno o - más de los aminoácidos esenciales, sin embargo las proteínas

CUADRO 1  
DISPONIBILIDAD NACIONAL DE LECHE  
(millones de litros)

---

AÑO	PRODUCCION DE LECHE	IMPORTACION	DISPONIBILIDAD NACIONAL
1976	5 907.3	506.9	6 414.2
1977	6 180.9	775.0	6 955.9
1978	6 509.5	758.9	7 268.5
1979	6 641.9	784.7	7 426.6
1980	6 741.5	1 946.9	8 688.4
1981	6 856.4	1 332.8	8 189.2
1982	6 923.6	974.2	7 897.8
1983	6 768.4	965.0	7 733.4
1984	6 860.0	1 040.0	7 900.0
1985	7 172.9	1 340.0	8 512.9
1986	6 924.5	1 311.7	8 236.2

---

Fuente: SARH, Dirección General de Fomento Ganadero. Departamento de Leche y Derivados.

## CUADRO 2

DEMANDA Y OFERTA NACIONAL DE LECHE

ASO	POBLACION (miles de hab.)	DEMANDA ANUAL (millones de lts.)	DISPONIBILIDAD (millones de lts.)	DEFICIT (millones de lts.)
1976	61 800.6	7 601.7	6 414.2	1 187.5
1977	63 821.5	7 850.3	6 955.9	894.4
1978	65 843.6	8 099.0	7 268.5	830.5
1979	67 899.0	8 351.9	7 426.6	925.3
1980	69 346.9	8 350.0	8 688.4	
1981	71 192.6	8 757.0	8 189.2	567.8
1982	73 010.6	8 980.6	7 897.8	1 082.8
1983	74 835.6	9 205.1	7 733.4	1 471.7
1984	76 538.6	9 414.6	7 900.0	1 514.6
1985	78 248.1	9 624.9	8 512.9	1 112.0
1986	79 814.8	9 829.9	8 236.2	1 593.7

Fuente: SARH, Dirección General de Fomento Ganadero. Departamento de Leches y Derivados.

NOTA: El requerimiento anual de la leche se calculó conforme al consumo promedio por persona necesario, de acuerdo al INN y datos del Consejo Nacional de Población (337 ml.)

CUADRO 3  
 DISPONIBILIDAD PER-CAPITA DE LECHE EN MEXICO  
 (1980 - 1986)

AÑO	DISPONIBILIDAD (millones de lts.)	POBLACION (miles de hab.)	CONSUMO PER-CAPITA (ml/día/hab.)
1980	8 686.4	69 342.9	343
1981	8 189.2	71 192.6	315
1982	7 897.8	73 010.6	296
1983	7 733.4	74 835.6	286
1984	7 900.0	76 538.6	282
1985	8 512.9	78 248.1	306
1986	8 236.2	79 914.8	307

Fuente: SARH, Dirección General de Fomento Ganadero. Departamento de Leche y Derivados.

de las leguminosas son las que más se acercan en calidad nutricional a las proteínas de origen animal, siendo deficientes en aminoácidos azufrados, sobre todo en metionina, y en algunos casos de triptofano, siendo estos dos los aminoácidos limitantes (3,6).

En diversos países en desarrollo como Guatemala, Perú, India y Argentina entre otros, se han desarrollado fórmulas lácteas a partir de proteínas vegetales principalmente de leguminosas, que han tenido notables perspectivas como suplemento en la alimentación infantil (5,7,8). Los niños alimentados con estos productos crecen y se desarrollan satisfactoriamente, además son muy útiles en los casos en que no se puede consumir leche, ya sea en niños alérgicos o bien en aquellos que presentan galactosemia o deficiencia de lactasa (7), las características organolépticas de estos productos son bien aceptados y en relación a los costos, su precio resulta dos o tres veces menor en comparación con productos a bases de leche de vaca (5.7).

Enmarcando a las proteínas de las leguminosas dentro de la alimentación, se observa que su introducción en la dieta de los niños sería una manera de contribuir a solucionar el problema de la falta de disponibilidad de las proteínas, por lo que surge la posibilidad de elaborar un sustituto lácteo a partir de una proteína de leguminosa, que ofrezca ser una nueva alternativa a las bebidas lácteas existentes que presentan un precio elevado.

Actualmente se han empezado a promover los sustitutos de la leche de vaca fresca. Existen dos categorías, una conocida como "leche completa", la cual es hecha comúnmente de leche descremada y aceites o grasa vegetal, la otra categoría es co



nocida como "leche de imitación" que no contiene leche como tal, sino que se basa en el caseinato de sodio el cual es obtenido de la leche, pero es considerado como una sustancia química, o bien una protefna vegetal como el aislado de protefna de scya (6).

De lo anteriormente descrito, se deriva la búsqueda de nuevas fuentes protefnicas que sean al mismo tiempo de gran valor nutritivo y de bajo costo, como es el caso del arvejón (*Pisum sativum*, variedad arvense) también conocido como arveja seca, guisante, chícharo de campo o chícharo pergamino (6,9,10,11,12).

El arvejón es una leguminosa que se cosecha cuando las semillas se han madurado y secado, es originario del Mediterráneo y se cultiva desde la antigüedad, actualmente se encuentra en todos los países de la zona templada (9,10).

En los últimos años se le ha dado gran importancia al cultivo del arvejón en la URSS, en la Gran Bretaña y en los países del norte de Europa, así como en Canadá, en donde se han producido variedades de semillas con mejor rendimiento y de muy buena calidad (9,10,11).

En México el arvejón no ha tenido gran desarrollo y los esfuerzos para su cosecha son escasos (cuadro 4), a pesar de las ventajas que puede ofrecer a los agricultores como las siguientes: el arvejón al cultivarse con frecuencia asociado con cereales aumenta el rendimiento y el valor nutritivo del forraje, produciendo buen heno, ensilado y abono verde; no es susceptible a las plagas y enfermedades de los cereales, permitiendo un cambio útil en la rotación de cultivos; fija su propio nitrógeno a través de las bacterias nitrificadoras de-

CUADRO 4  
 PRODUCCION AGRICOLA DE ALGUNAS LEGUMINOSAS EN LA  
 REPUBLICA MEXICANA (1981 - 1985)  
 (toneladas)

PRODUCTO	1981	1982	1983	1984	1985
ARVEJON	4 228	984	1 002	2 661	1 240
FRIJOL	1 331 305	943 309	1 281 706	973 563	911 908
GARBANZO	18 999	49 825	81 793	85 062	116 698
SOYA	706 697	47 650	686 456	684 899	928 616

Fuente: Anuario Estadístico de la Producción Agrícola de los Estados Unidos Mexicanos. DGEA-SARH, 1981-1985.

los nódulos de las raíces, lo que ayuda a reducir el gasto en fertilizantes; la mayoría de los agricultores no requieren de inversiones adicionales en nuevos equipos para comenzar a cultivar el arvejón, ya que puede cultivarse y cosecharse con la maquinaria utilizada para cereales tradicionales (10).

El arvejón contiene de 22 a 29% de proteína cruda y aunque su contenido total de proteína es menor que el de la soya, su valor nutritivo es casi el mismo (10), ya que tanto el arvejón como la soya presentan un nivel similar de deficiencia en aminoácidos azufrados, metionina y cistina, y en lo que respecta a los demás aminoácidos esenciales, se encuentran en cantidades adecuadas con respecto a la proteína patrón FAO 1973, tanto en el arvejón como en la soya (10,11).

El arvejón se emplea para alimentación humana, pero también se ha aprovechado para alimentación animal, para aves, cerdos y rumiantes. Se ha observado en aves, que el valor proteínico no es tan alto como el de la harina de pescado, sin embargo con un tratamiento con calor y la adición de metionina aumenta la producción animal en forma similar a la que se logra con la harina de pescado (9,10).

A través de los trabajos de investigación sobre el arvejón, se ha observado que puede transformarse en una fuente valiosa de materia prima para la industria de alimentos (10,11,13,14). La harina de arvejón puede ser un aditivo, ya sea como suplemento proteínico o como sustituto parcial de la harina de trigo (10,12,15).

El arvejón se ha usado en bebidas proteínicas no lácteas y en alimentos para bebés, basándose en un concentrado proteínico de arvejón (10,11,13). En varios ensayos, algunas personas -

detectan un sabor final indeseable de arvejon, pero en general la reaccion a los alimentos que contienen esta materia prima ha sido favorable. (10)

El concentrado protefinico de arvejon se ha obtenido principalmente por el metodo de extraccion alcalina seguido de una precipitacion en su punto isoelectrico, obteniendose concentrados con alto contenido de protefina, buena funcionalidad y sobre todo conservando sus propiedades nutricionales, ademas se considera como un proceso barato. (11,13,14)

Otros procesos que se han utilizado son: la molienda selectiva, donde es posible obtener un concentrado protefinico a traves de una clasificacion por aire; la ultrafiltracion y la osmosis inversa, procesos similares en los que se utiliza una presion sobre un lado de la membrana como fuerza que permite llevar a cabo dicha separacion. Tanto la ultrafiltracion como la molienda selectiva son nuevas perspectivas para la obtencion de concentrados protefinicos (10,11,12), sin embargo comparando estos procesos con el de extraccion alcalina, resultan un poco costosos debido al equipo que se utiliza (11,16,17).

Por lo tanto considerando la necesidad de disponer de protefinas de buena calidad y de bajo costo, se llevo a cabo el presente estudio, cuyo objetivo general fue: elaborar un sustituto lacteo deshidratado que reuna las caracteristicas nutricionales adecuadas para la alimentacion infantil, utilizando un concentrado protefinico de arvejon.

## DISEÑO EXPERIMENTAL

## A. METODOLOGIA

1. Se seleccionó el arvejón por ser una importante fuente de proteína vegetal, así como por su bajo costo y disponibilidad en México.
2. El arvejón se sometió a una limpieza manual para eliminar partículas extrañas, posteriormente se pasó a través de un molino de coronas para obtener una harina, con una partícula de malla 100.
3. La harina de arvejón se evaluó mediante análisis químico proximal, determinación de factores antifisiológicos y de terminación del índice de solubilidad del nitrógeno.
4. Se estableció un diagrama preliminar de bloques, para la obtención del concentrado proteínico del arvejón (figura - 2), posteriormente el diagrama fue modificado a nivel planta piloto, obteniéndose un concentrado proteínico de arvejón. El proceso de extracción y concentración de la proteína se basó en la solubilización de la proteína en un álcali, seguida de una precipitación en su punto isoeléctrico con un ácido, después el precipitado se lavó, se neutralizó y se secó por aspersión. (figura 3)
5. El concentrado proteínico se evaluó mediante análisis químico proximal, determinación de factores antifisiológicos, análisis microbiológico, contenido de aminoácidos y determinación de la relación de eficiencia protéica (PER).

6. Se elaboró la formulación del sustituto lácteo tomando en consideración: 1) los requerimientos diarios recomendados en la dieta para niños de 6 a 10 años (18), 2) la composición de la leche entera en polvo (19) y 3) las recomendaciones hechas por la FAO/OMS para alimentos para niños de corta edad (4).
7. Posteriormente se llevó a cabo la obtención del sustituto deshidratado, siguiendo el procedimiento que se ilustra en la figura 4.
8. Finalmente se evaluó el sustituto lácteo mediante análisis químico proximal, determinación de factores antifisiológicos, análisis microbiológico, determinación de la relación de eficiencia proteica (PER), utilización neta de la proteína (NPU), digestibilidad aparente de la proteína (DA), y determinación de propiedades físicas del sustituto lácteo reconstituido.

## B. METODOS DE ANALISIS

1. Análisis Químico Proximal, de acuerdo a los métodos oficiales establecidos por la A.O.A.C. (20)
  - 1.1 Humedad por estufa de vacío (21)
  - 1.2 Humedad por estufa de secado (22)
  - 1.3 Cenizas por calcinación (23)
  - 1.4 Nitrógeno total por el método de Kjeldahl (24)
  - 1.5 Extracto etéreo por el método de Goldfish (25)
  - 1.6 Fibra cruda por el método de hidrólisis ácida y alcalina (26)
  - 1.7 Materia grasa por extracción eteroclorhídrica (29), apéndice A.
  
2. Índice de Solubilidad del Nitrógeno (NSI), modificación al método 46-23 del A.A.C.C. (30), apéndice A.
  
3. Análisis Microbiológicos, en base a las técnicas microbiológicas establecidas por la Secretaría de Salud. (31)
  - 3.1 Cuenta de bacterias mesofílicas aerobias, agar cuenta estándar.
  - 3.2 Hongos y levaduras, agar papa dextrosa acidificada.
  - 3.3 Coliformes totales y fecales, número más probable (NMP)
  - 3.4 Salmonella, pre-enriquecimiento en agua peptonada
  
4. Determinación de Factores Antifisiológicos.
  - 4.1 Inhibidor de tripsina, método de Kakade (32)
  - 4.2 Glucósidos cianogénicos, método cualitativo del A.O.A.C. (27)

- 4.3 Saponinas, método cualitativo de Monroe (33)
- 4.4 Alcaloides, método cualitativo (34)
- 4.5 Hemaglutininas, método cualitativo de Jaffé (35)

## 5. Evaluación de la Calidad de la Proteína.

### 5.1 Método Químico

5.1.1 Determinación del contenido de aminoácidos, mediante cromatografía en columna de acuerdo a la técnica de Spies y Chambers (37)

5.2.1 Método de Calificación Química. Con los resultados obtenidos por el análisis de aminoácidos se calculó la calificación química de los aminoácidos esenciales de la siguiente manera:

$$\text{Calificación Química} = \frac{\text{gramos del aminoácido esencial en 100 gramos de proteína problema}}{\text{gramos del aminoácido esencial en 100 gramos de la proteína patrón}} \times 100$$

El aminoácido que muestra el porcentaje menor - se denomina aminoácido limitante y éste da la calificación química (38,39). La proteína con la que se evaluó fue la proteína patrón FAO/OMS 1973. (39)

### 5.2 Método Biológico.

- 5.2.1 Relación de Eficiencia Protéica (PER), (40)
- 5.2.2 Utilización Neta de la Proteína (NPU), (40)
- 5.2.3 Digestibilidad Aparente de la Proteína (DA), (40)



## 6. Propiedades Físicas.

- 6.1 Estabilidad. Se determinó midiendo en una probeta - graduada de 100 ml, el porcentaje de separación de - las fases (fase acuosa y fase de suspensión), por un tiempo máximo de 60 minutos a una temperatura de 20°C (5)
- 6.2 Densidad, se determinó con un picnómetro a una temperatura de 20°C (28)
- 6.3 Viscosidad, se determinó mediante el viscosímetro de Brookfield a 20°C.

## C. MATERIALES Y EQUIPO.

Se utilizó el material, equipo de laboratorio y planta piloto de la División Experimental y Ciencia de los Alimentos - del Instituto Nacional de Nutrición, Salvador Zubirán (INNSZ)

Las materias primas y los principales aparatos utilizados se encuentran mencionados en el apéndice B.

## RESULTADOS Y ANALISIS DE RESULTADOS

### Evaluación de la Materia Prima

En el cuadro 5 se muestra el análisis químico proximal de la harina de arvejón. Se observa que el contenido de proteínas es alto, casi el doble que el que presentan los cereales de acuerdo con la tabla de composición del valor nutritivo de los alimentos (19), también se observa un alto contenido de carbohidratos y baja cantidad de grasa y fibra, composición característica de las leguminosas, con excepción de la soya y el cacahuate que son ricas en grasas.

Cabe señalar que los resultados se encuentran dentro de los rangos reportados en la literatura (13,14) y que la harina presentó un color crema claro característico del arvejón.

La determinación de los factores antifisiológicos en el arvejón, es de gran importancia, ya que estos generalmente están presentes pero varían en su contenido y si se encuentran en grandes cantidades pueden reducir el valor nutritivo del arvejón. (12)

Los resultados de la determinación de los factores antifisiológicos en la harina de arvejón se presentan en el cuadro 6.

Inhibidor de tripsina. El inhibidor de tripsina es un compuesto de carácter protéico que forma un complejo estable con la enzima proteolítica tripsina, su consumo prolongado afecta a la digestión, ya que las proteínas no son degradadas ni absorbidas por lo que son excretadas como tal en las

CUADRO 5  
RESULTADOS DEL ANALISIS QUIMICO PROXIMAL  
DE LA HARINA DE ARVEJON  
(g/100 g de muestra)

---

DETERMINACION

---

HUMEDAD	9.7
PROTEINA CRUDA (N x 6.25)	21.8
EXTRACTO ETereo	2.8
FIBRA CRUDA	5.7
CENIZAS	2.6
CARBOHIDRATOS (por diferencia)	57.4

---

## CUADRO 6

RESULTADOS DE LA DETERMINACION DE FACTORES ANTIFISIOLOGICOS  
DE LA HARINA DE ARVEJON

---

 DETERMINACION
 

---

INHIBIDOR DE TRIPSINA	1 700 UIT/g <sup>a</sup>
GLUCOSIDOS CIANOGENICOS	negativo
SAPONINAS	negativo
ALCALOIDES <sup>b</sup>	
REACTIVO DE MAYER	+ +
REACTIVO DE DRAGENDORFF	+ + +
REACTIVO DE WAGNER	+ + +
REACTIVO DE SONNENSCHNEIN	+ +
HEMAGLUTININAS <sup>c</sup>	
VACA	0
HUMANO	0
CONEJO	11

---

a. Unidades inhibidas de tripsina por gramo de muestra seca y desgrasada.

b. Clave: (-) precipitado negativo, (+) precipitado escaso, (++) precipitado moderado, (+++) precipitado abundante.

c) Se indica la última dilución en que era evidente la aglutinación al cabo de una hora.

heces fecales, provocando una insuficiencia proteínica en el humano y/o animal (41). En la harina de arvejo se encontró 1700 UIT/g de muestra, este resultado es bajo si lo comparamos con otras leguminosas, por ejemplo la soya en la que se han encontrado 28,400 UIT/g de muestra (12). En la literatura revisada no se encontraron rangos que definan los niveles de toxicidad del inhibidor de tripsina.

Glucósidos cianogénicos. Los glucósidos cianogénicos son compuestos capaces de liberar ácido cianhídrico ya sea por hidrólisis química o enzimática. El ácido cianhídrico ejerce su acción tóxica bloqueando a la citocromoxidasa impidiendo con ello la respiración celular, lo que ocasiona muerte por anoxia (41). No se detectó presencia de glucósidos cianogénicos en el arvejo.

Saponinas. Las saponinas son glucósidos formados por saponina y diversos azúcares, que tienen la propiedad de producir espuma, disminuir la tensión superficial y ser hemolíticas, en casos de envenenamiento pueden provocar manifestaciones de gastroenteritis. (41) En la harina de arvejo no se encontró presencia de saponinas.

Alcaloides. Los alcaloides son compuestos nitrogenados de origen vegetal o animal que presentan propiedades alcalinas más o menos marcadas, algunas de ellas ejercen una acción energética sobre el organismo y desempeñan un importante papel en terapéutica. (42) En la prueba cualitativa de alcaloides se detectó un precipitado moderado para los reactivos de Mayer y Sonnenschein y un precipitado abundante para los reactivos de Dragendorff y Wagner, debido a que esta prueba es cualitativa, (41) la formación de precipitados se consideran pruebas presuntivas de su existencia, por lo que no es posi-

ble mencionar de qué tipo de alcaloides se traten sin embargo a través del proceso de extracción y concentración de la proteína se pretende disminuir la presencia de alcaloides en el concentrado proteínico así como también en el sustituto lácteo.

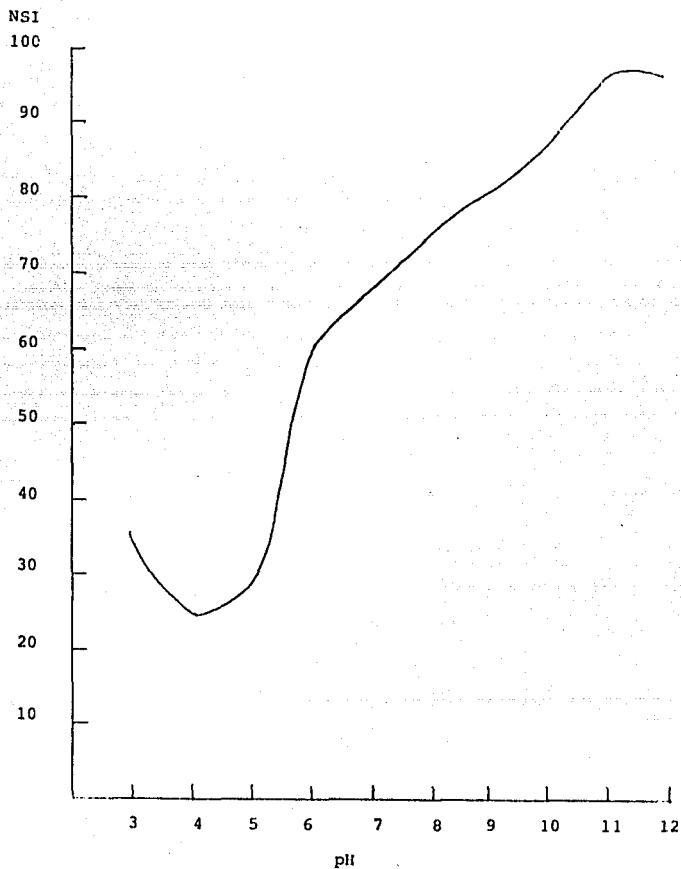
Hemaglutininas. Las hemaglutininas son glicoproteínas capaces de aglutinar los glóbulos rojos de la sangre y pueden producir hemorragias gastrointestinales graves e incluso mortales. (41) Las hemaglutininas determinadas en la harina de arvejón con eritrocitos de vaca y humano fueron negativas no así con eritrocitos de conejo, cuya presencia no tiene importancia toxicológica en el organismo según Jaffe. (12)

En la figura 1 se presenta la determinación del Índice de Solubilidad del Nitrógeno (NSI) con respecto al pH, en la harina de arvejón. Se ve al principio de la gráfica que el valor de NSI cae a un valor mínimo de 23.9 a pH 4, y conforme aumenta el pH el valor de NSI también se va incrementando hasta llegar a un valor máximo de 97.0 a un pH 11.

De acuerdo con estos resultados a un pH de 11 la mayor parte de la proteína se solubiliza, esto se debe a que la fracción proteica está formada en su mayoría por globulinas las cuales son solubles en soluciones salinas, siendo el hidróxido de sodio un excelente disolvente de compuestos nitrogenados (6,43). En cambio a un pH de 4 se encuentra el punto isoeléctrico de la proteína, que se caracteriza por la baja solubilidad y precipitación de la proteína.

FIGURA 1

INDICE DE SOLUBILIDAD DEL NITROGENO EN LA HARINA DE ARVEJON



### Obtención del Concentrado Proteínico.

En base a la información técnica consultada y a los resultados de Morales M. (1986), (44), se propuso un diagrama de bloques preliminar para la obtención del concentrado proteínico de arvejón (CPA), basándose en el método de extracción alcalina seguida de una precipitación en su punto isoeléctrico, figura 2.

Este proceso se probó previamente en el laboratorio con el objeto de optimizarlo a nivel planta piloto y poder establecer las condiciones óptimas para producir el concentrado proteínico de arvejón (CPA), se fijó el pH de la extracción alcalina y el pH de la precipitación, pH de 11 y pH de 4 respectivamente, de acuerdo con los resultados de NSI.

Se observó que las centrifugaciones eran procesos muy lentos y laboriosos para llevarse a cabo a nivel planta piloto y se trataron de sustituir por decantación, sin embargo se encontró que las dos primeras centrifugaciones eran operaciones primordiales para un mejor rendimiento, en cambio la tercera centrifugación sí resultó ser factible de sustituirse por decantación, sin que esto afectara el rendimiento.

También se observó que era necesario lavar el CPA antes de ajustar el pH a 7, para eliminar el exceso de cloruro de sodio formado por la adición de soluciones de hidróxido de sodio y de ácido clorhídrico.

El diagrama de bloques preliminar fue modificado y el proceso que se siguió para la obtención del CPA a nivel planta piloto se muestra en la figura 3.



DIAGRAMAS DE BLOQUES PRELIMINAR PARA LA OBTENCION DEL CONCENTRADO PROTEINICO DE ARVEJON

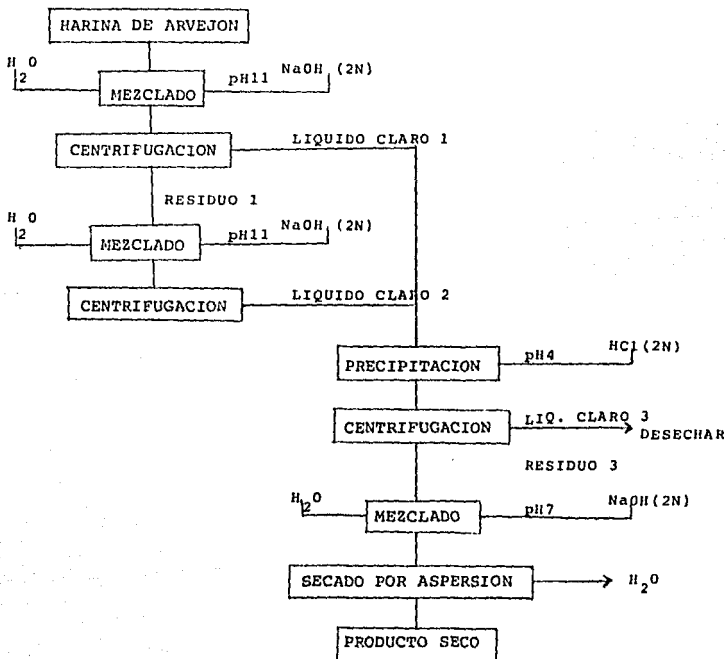
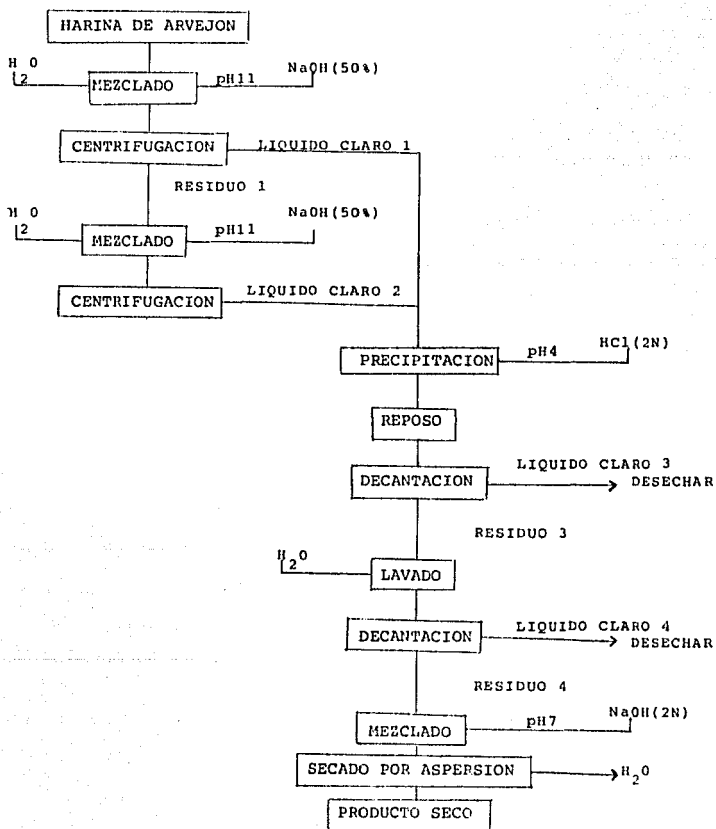


FIGURA 3

DIGRAMA DE BLOQUES DE LA OBTENCION DEL CONCENTRADO PROTEINICO  
A NIVEL PLANTA PILOTO



Para el proceso de secado se utilizó un secador por aspersión y las condiciones fueron las siguientes: temperatura de entrada del aire 190-200°C, temperatura de salida del aire 85-95°C y presión del flujo del alimento de 2,500 Psi.

En la obtención del CPA se utilizó 12Kg de harina de arvejo, obteniéndose un rendimiento de 18.3%, valor bajo comparado con el que se tiene reportado en una operación similar realizada comercialmente en Canadá que es de 33% de rendimiento con un contenido de 55% de proteína. (11) Este rendimiento bajo se debió principalmente a las pérdidas producidas en el secador, debido a una presión mayor del alimento que el recomendado, lo que provocó condensación y formación de costras del producto en el techo de la cámara, lo cual generó mermas en el CPA.

El CPA presentó un color amarillo pálido con un sabor y aroma suave muy semejante al de la harina.

#### Evaluación del Concentrado Proteínico.

De acuerdo con los resultados del análisis químico proximal cuadro 7, el CPA cumple satisfactoriamente con las especificaciones establecidas por la FAO (1962), (6) para concentrados de proteína de plantas comestibles convencionales, tales especificaciones señalan que para designarse concentrados proteínicos deben contener por lo menos 60% de proteína, 10% de humedad como máximo y 10% de grasa también como máximo.

Los resultados de la determinación de factores antifisiológicos en el CPA se muestran en el cuadro 8. Se observa que tanto la presencia de unidades inhibidas de tripsina, como -

## CUADRO 7

RESULTADOS DEL ANALISIS QUIMICO PROXIMAL  
DEL CONCENTRADO PROTEINICO DE ARVEJON  
(g/100 g de muestra)

---

DETERMINACION

---

HUMEDAD	5.7
PROTEINA CRUDA (N x 6.25)	66.5
EXTRACTO ETereo	0.8
FIBRA CRUDA	0.8
CENIZAS	8.6
CARBOHIDRATOS(por diferencia)	17.6

---

CUADRO 8  
 RESULTADOS DE LA DETERMINACION DE FACTORES ANTIFISIOLOGICOS  
 DEL CONCENTRADO PROTEINICO DE ARVEJON

---

DETERMINACION

---

INHIBIDOR DE TRIPSINA	Menos de 1 000 UIT/g <sup>a</sup>
GLUCOSIDOS CIANOGENICOS	negativo
SAPONINAS	negativo
ALCALOIDES <sup>b</sup>	
REACTIVO DE MAYER	+ +
REACTIVO DE DRAGENDORFF	+ +
REACTIVO DE WAGNER	+ +
REACTIVO DE SONNENSCHNEIN	-
HEMAGLUTININAS <sup>c</sup>	
VACA	0
HUMANO	0
CONEJO	10

---

a. Unidades inhibidas de tripsina por gramo de muestra seca y desgrasada.

b. Clave: (-) precipitado negativo, (+) precipitado escaso, (++) precipitado moderado, (+++) precipitado abundante.

c. Se indica la última dilución en que era evidente la aglutinación al cabo de una hora.

la presencia de alcaloides y de hemaglutininas determinadas en eritrocitos de conejo, bajó ligeramente en el CPA. Esta disminución se debe al proceso de extracción y concentración de la protefna en el cual se eliminan al mismo tiempo carbohidratos, grasa, fibra y otros compuestos como los factores antifisiológicos.

En el cuadro 9 se muestran los resultados del análisis micro biológico del CPA. En general se encontró que el CPA no presenta problemas microbiológicos, pero puesto que se va a elaborar un sustituto lácteo para alimentación infantil, va a ser necesario bajar un poco la cuenta de bacterias mesofílicas aerobias y la cuenta de hongos en el producto final, para cumplir satisfactoriamente con las especificaciones micro biológicas que establece la Dirección General de Salud Pública para fórmulas infantiles, 1974. (45)

En el cuadro 10 se presenta la determinación del contenido de aminoácidos en el CPA, así como la Calificación Química de los aminoácidos esenciales. Como se observa, la protefna de arvejón es rica en lisina, además es adecuada en otros aminoácidos esenciales, sin embargo presenta una marcada deficiencia de aminoácidos azufrados, metionina y cistina, con una secundaria deficiencia de triptofano, se ha observado que estas deficiencias en las leguminosas provocan en las ratas una baja ganancia de peso y poca retención de nitrógeno. (46)

En el cuadro 11 se muestra la determinación de la Relación de Eficiencia Protéica (PER) del CPA. Se observa que el valor obtenido en la dieta de arvejón es bajo y representa el 30% del valor del PER de la caseína, este valor bajo es debido principalmente a la deficiencia de los aminoácidos esenciales ya mencionados.

## CUADRO 9

RESULTADOS DEL ANALISIS MICROBIOLÓGICO  
DEL CONCENTRADO PROTEINICO DE ARVEJON

---

DETERMINACION	Col/g
<hr/>	
CUENTA DE BACTERIAS	
MESOFILICAS AEROBIAS	59 000
HONGOS	160
LEVADURAS	0
COLIFORMES TOTALES NMP <sup>a</sup>	9.1
COLIFORMES FECALES NMP	menos de 3
SALMONELLA	negativo

---

a. Número más probable.

CUADRO 10

DETERMINACION DEL CONTENIDO DE AMINOACIDOS EN EL  
 CONCENTRADO PROTEINICO DE ARVEJON  
 (g aminoácido/100 g de proteína)

AMINOACIDO	CPA	PATRON FAO (1973)	C.Q. <sup>a</sup>
ALANINA	5.47		
ARGININA	11.33		
AC. ASPARTICO	12.46		
GLICINA	4.59		
AC. GLUTAMICO	17.29		
HISTIDINA	2.79		
ISOLEUCINA	5.36	4.0	134.0
LEUCINA	9.42	7.0	134.6
LISINA	9.77	5.5	177.6
METIONINA + CISTINA <sup>b</sup>	1.65	3.5	47.1
PROLINA	4.83		
SERINA	4.56		
TIROSINA + FENILALANINA	9.55	6.0	159.2
TREONINA	3.90	4.0	97.5
TRIPTOFANO	0.60	1.0	60.0
VALINA	6.46	5.0	129.2

a. Calificación Química.

b. Aminoácidos limitantes.



## CUADRO 11

RELACION DE EFICIENCIA PROTEICA (PER) DEL  
CONCENTRADO PROTEINICO DE ARVEJON

---

DIETA	PER ajustado	% DE PER con respecto a caseina
CASEINA	2.5	100
CPA	0.75	30

---

### Formulación y Obtención del Sustituto Lácteo.

La formulación del sustituto a partir del concentrado proteínico de arveji3n se muestra en el cuadro 12.

Para la formulaci3n del sustituto lácteo se utiliz3 como fuente de protefna, el concentrado protefínico de arveji3n, el contenido de protefna del sustituto se formul3 muy semejante al de la leche entera en polvo, de acuerdo con las recomendaciones hechas por la FAO/OMS para alimentos para ni3os de corta edad (4); como fuente de grasas se adicion3, aceite de maiz que suministra los ácidos grasos esenciales y da un agradable olor (47), el contenido de grasa del sustituto fue más bajo que el que presenta la leche entera en polvo, esto fue con el objeto de disminuir la posibilidad de alteraci3n del producto por rancidez, ya que se ha observado este fenómeno en varios productos por la alta cantidad de grasa que contiene (5,7); y como fuente de carbohidratos se utiliz3 maltodextrinas que son de fácil asimilaci3n y además tienen la propiedad de no aumentar la presi3n osm3tica del producto reconstituído, como es el caso de otros carbohidratos como la glucosa que puede provocar presencia de diarrea en los ni3os, también las maltodextrinas tienen la capacidad de dar cuerpo y dispersar uniformemente los s3lidos del producto. (48)

Se adicion3 lecitina de soya como emulsificante para incorporar la parte oleosa a la parte hidrosoluble durante el procedimiento de la obtenci3n del sustituto, ya que se observ3 que era necesario para evitar la separaci3n de las dos fases.

Tambi3n se consider3 la adici3n de algunos estabilizantes para incrementar la estabilidad de los s3lidos, ya que estos se estabilizaron hasta un 95%, resultando la goma guar el

## CUADRO 12

FORMULACION DEL SUSTITUTO LACTEO

COMPONENTE	POR 100 g DE PRODUCTO
CONCENTRADO PROTEINICO DE ARVEJON	38.00 g
ACEITE DE MAIZ	16.00 g
MALTODEXTRINAS	42.00 g
LECITINA	2.00 g
GOMA GUAR	0.06 g
DL-METIONINA	0.30 g
VITAMINA A	1400 UI
VITAMINA D	200 UI
TIAMINA	250 UI
RIBOFLAVINA	0.4 mg
VITAMINA B <sub>6</sub>	0.5 mg
FOSFATO DE CALCIO DIBASICO equivalente a Ca	350 mg
ORTOFOSFATO FERRICO equivalente a Fe	6 mg

agente estabilizante más adecuado, tanto por sus propiedades funcionales así como por su costo, obteniéndose finalmente - una estabilidad de 100%.

El sustituto lácteo se fortificó con vitaminas y minerales como: vitamina A, vitamina D, riboflavina, tiamina, vitamina B<sub>6</sub>, hierro y calcio, con el objeto de proporcionar los micro nutrientes que se encuentran normalmente en la leche (4,19, 49) y que tiene riesgo de presentar deficiencia de estos, el grupo al cual va dirigido el producto (7,49).

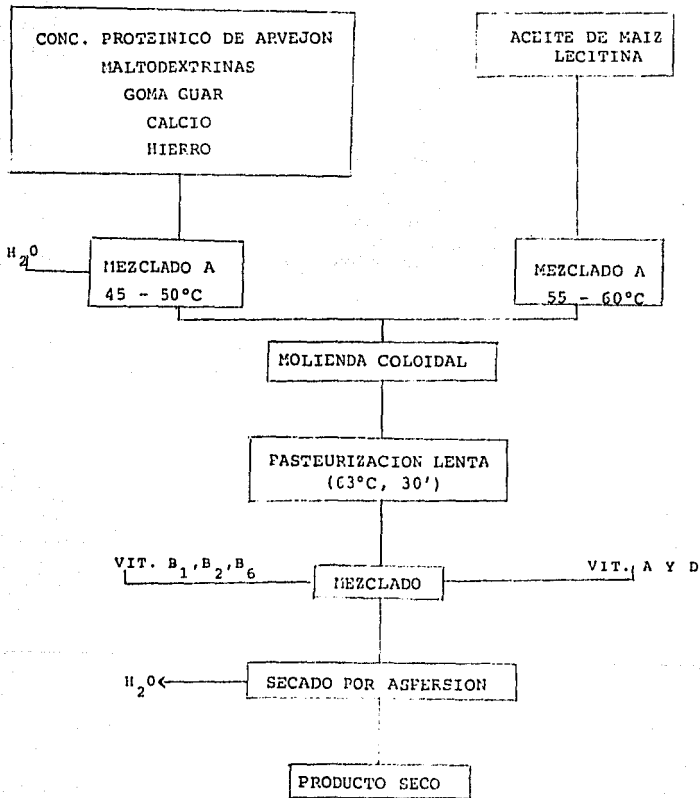
También se añadió DL-metionina para mejorar la calidad de la proteína de arveja, ya que es el aminoácido más deficiente y se ha observado que su adición mejora notablemente la calidad de la proteína (11,50,51). Se agregó DL-metionina al - 0.3%, para determinar este nivel se tomó en cuenta tanto los niveles recomendados en la literatura (11,50,51), como la - cantidad de metionina presente en el concentrado proteínico de arveja.

Las formas D y L de la metionina son utilizadas de igual forma en el organismo (46,50), por lo que no es necesario la resolución, su adición no aumenta grandemente el costo del sustituto lácteo ya que se usa en pequeñas cantidades y es uno de los aminoácidos sintéticos más baratos en el mercado. (46)

El procedimiento que se siguió para la obtención del sustituto lácteo se basó en la literatura (52) y se ilustra en la - figura 4. Durante el procedimiento el sustituto lácteo se - pateurizó a 63°C por 30 minutos, con el fin de disminuir la cuenta de bacterias mesofílicas aerobias y la cuenta de hongos, presentes principalmente en el concentrado proteínico y cumplir satisfactoriamente con las especificaciones microbio

FIGURA 4

DIAGRAMA DE OBTENCION DEL SUSTITUTO LACTEO  
 PARTE HIDROSOLUBLE                      PARTE LIPOSOLUBLE



lógicas establecidas por la Dirección General de Salud Pública, para fórmulas infantiles. (45)

El sustituto lácteo durante la pasteurización no sufrió ninguna alteración de sus propiedades físicas.

Las vitaminas se agregaron después de la pasteurización para evitar pérdidas, ya que algunas son muy sensibles al calor - como la tiamina (vitamina B<sub>1</sub>), (53).

Por último el sustituto lácteo se secó por aspersión, para reducir el contenido de agua y por consiguiente la actividad acuosa, crecimiento y desarrollo de microorganismos. Las condiciones del secador fueron las siguientes: temperatura de entrada del aire 190-200°C, temperatura de salida del aire 85-95°C y presión de flujo del alimento 2,300 Psi.

#### Evaluación del Sustituto Lácteo.

En el cuadro 13 se muestra el análisis químico proximal del sustituto lácteo, así como la cantidad de energía que suministra. La energía fue calculada por medio de los factores de Atwater (39), 4 Kcal por g de proteínas, 9 Kcal por g de grasas y 4 Kcal por g de carbohidratos, dando un total de 453 Kcal.

Se observa en relación con la leche entera en polvo que el contenido de proteína del sustituto lácteo es muy semejante (27,6%), (19), en cuanto al contenido de grasa es menor y los carbohidratos se encuentran en mayor cantidad, de acuerdo como se había formulado. El contenido de grasa se determinó por el método de extracción eteroclorhídrica, método en

CUADRO 13  
RESULTADOS DEL ANALISIS QUIMICO PROXIMAL  
DEL SUSTITUTO LACTEO DESHIDRATADO  
(g/100 g de muestra)

---

DETERMINACION

---

HUMEDAD	3.5
PROTEINA CRUDA (N x 6.25)	26.2
EXTRACTO ETereo	18.1
CENIZAS	5.7
CARBOHIDRATOS (por diferencia)	46.5
ENERGIA Kcal/100 g	453

---

donde se destruye la emulsión por medio del ac. clorhídrico destruyendo también la materia orgánica, dadas estas circunstancias no fue posible determinar después el contenido de fibra cruda en el sustituto lácteo, pero teniendo en cuenta el contenido de fibra del CPA, fue posible calcular matemáticamente su contenido, ya que es el único componente que proporciona fibra al sustituto, obteniéndose de esta forma un valor de 0.3% de fibra.

Si el sustituto lácteo en polvo se rehidrata a 12% de sólidos, 250 ml (aproximadamente un vaso) proporcionará por ejemplo para un niño de 3 años, 24% de los requerimientos proteínicos y 11% de las recomendaciones energéticas diarias.

Los resultados de la determinación de factores antifisiológicos del sustituto lácteo se presentan en el cuadro 14, se observa una clara disminución de alcaloides y de hemaglutininas determinadas en eritrocitos de conejo, como resultado del tratamiento término al cual se sometió, ya que la mayoría de estos factores son termolábiles (12.54) siendo el inhibidor de tripsina uno de los más resistentes (54), de ahí que todavía se cuantificó en el sustituto lácteo, pero en mínima cantidad, menos de 1000 UIT/g de muestra.

En el cuadro 15 se presentan los resultados del análisis microbiológico del sustituto lácteo, observándose una baja cuenta microbiana debido a la efectividad de la pasteurización realizada, cumpliendo satisfactoriamente con las especificaciones de la Dirección General de Salud Pública para fórmulas infantiles (45) que ahí mismo se presentan.

La determinación de las propiedades físicas del sustituto lácteo se muestran en el cuadro 16. El sustituto lácteo se



CUADRO 14  
 RESULTADOS DE LA DETERMINACION DE FACTORES ANTIFISIOLOGICOS  
 DEL SUSTITUTO LACTEO

---

DETERMINACION

---

INHIBIDOR DE TRIPSINA	menos de 1000 UIT/g <sup>a</sup>
GLUCOSIDOS CIANOGENICOS	negativo
SAPONINAS	negativo
ALCALOIDES <sup>b</sup>	
REACTIVO DE MAYER	-
REACTIVO DE DRAGENDORFF	-
REACTIVO DE WAGNER	-
REACTIVO DE SONNENSCHNEIDEN	-
HEMAGLUTININAS <sup>c</sup>	
VACA	0
HUMANO	0
CONEJO	2

---

a. Unidades inhibidas de tripsina por gramo de muestra seca y desgrasada.

b. Clave: (-) precipitado negativo, (+) precipitado escaso, (++) precipitado moderado, (+++) precipitado abundante.

c. Se indica la última dilución en que era evidente la aglutinación al cabo de una hora.

**CUADRO 15**  
**RESULTADOS DEL ANALISIS MICROBIOLÓGICO DEL SUSTITUTO**  
**LACTEO**

DETERMINACION	SUSTITUTO LACTEO	ESPECIFICACIONES MICROBIOLÓGICAS de la SSA <sup>a</sup>
CUENTA DE BACTERIAS		
MESOFILICAS AEROBIAS	610 Col/g	10 000 Col/g
HONGOS Y LEVADURAS	0	0
COLIFORMES TOTALES	0	0
SALMONELLA	negativo	negativo

a. Para fórmulas infantiles.

CUADRO 16  
DETERMINACION DE PROPIEDADES FISICAS DEL  
SUSTITUTO LACTEO

---

ESTABILIDAD A 20°C    100% ESTABLE

DENSIDAD    A 20°C    1.031 g/ml

VISCOSIDAD    A 20°C    2.0 cp.

---

reconstituyó a 12% de sólidos y presentó una dispersión homogénea, con una estabilidad de 100% a una temperatura de 20°C, durante más de una hora, una densidad de 1.031 g/ml muy semejante a la leche fresca que es de 1.031 g/ml (55). La viscosidad determinada por el viscosímetro de Brookfield a 20°C - fue de 2.0 cp (centipoises), también muy semejante a la viscosidad de la leche que es de 2.2 cp (55).

En el cuadro 17 se presentan los resultados de la Relación - de Eficiencia Protéica (PER), Utilización Neta de la Proteína (NPU) y la Digestibilidad Aparente (DA) del sustituto lácteo.

Se observa que el PER del sustituto lácteo presenta un mejoramiento muy significativo, lo que representa el 78.8% del - valor del PER de la caseína, valor que se considera adecuado de acuerdo a la Norma Internacional Recomendada para alimentos para niños de pecho y niños de edad corta. (4)

En cuanto a la determinación de NPU, prueba que mide directamente la retención de nitrógeno, se obtuvo para el sustituto lácteo un valor de NPU muy semejante al de la caseína, lo - que proporciona el 87.4% con respecto al NPU de caseína.

Y con respecto a la digestibilidad aparente se observa que - la proteína del sustituto lácteo tiene una alta digestibilidad, que junto con los resultados de PER y NPU muestran que la proteína del sustituto lácteo es una proteína de buena calidad.

Este mejoramiento en la calidad de la proteína de arvejo, - es el resultado de la suplementación con DL-metionina así como de la eliminación de la mayoría de los factores antifisiológicos en el sustituto lácteo.

## CUADRO 17

RESULTADOS DE LA RELACION DE EFICIENCIA PROTEICA (PER)  
 UTILIZACION NETA DE LA PROTEINA (NPU) Y DIGESTIBILIDAD  
 APARENTE (DA) DEL SUSTITUTO LACTEO

DETERMINACION	CASEINA	SUSTITUTO LACTEO
PER ajustado	2.5	1.97
% de PER con respecto a caseína	100	78.8
NPU	53.5	46.8
% de NPU con respecto a caseína	100	87.4
DA	86.9	78.1
% de DA con respecto a caseína	100	89.9

## CONCLUSIONES

1. El arvejón es una importante fuente de proteína vegetal, rica en lisina y adecuada en otros aminoácidos esenciales con excepción de metionina y cistina, que tiene notables ventajas para su desarrollo y utilización en la industria alimentaria.
2. El concentrado proteínico de arvejón puede ser usado como un suplemento nutricional adecuado dentro de una gran variedad de alimentos, por su calidad y alto contenido de proteína y por la eliminación de la mayoría de los factores antifisiológicos.
3. El sustituto lácteo ofrece ser una alternativa adecuada a la falta de disponibilidad de leche en la alimentación infantil, tanto por sus características nutricionales como por sus propiedades físicas semejantes a las de la leche, que junto con una dieta mixta proporcionarán los requerimientos proteínicos necesarios.

## SUGERENCIAS

Es necesario realizar más investigaciones en el concentrado proteínico de arvejón sobre cómo mejorar su rendimiento, así como determinar algunas propiedades funcionales que son importantes para su incorporación a otro tipo de alimentos, tales como absorción de agua, absorción de grasa y emulsificación, también evaluar características organolépticas y conte

nido de vitaminas y minerales e investigar si estas propiedades se modifican por las condiciones del procedimiento de obtención del concentrado proteínico.

También se sugiere que en investigaciones futuras el sustituto lácteo se someta a pruebas sensoriales de aceptación y tolerancia del producto, y se realice un análisis de costos.

## B I B L I O G R A F I A

1. Arroyo, S. C.  
La actualidad lechera en México.  
Industrias Lácteas, 31 (4), 1982.
2. Carrillo, D. Silvia  
La problemática de la alimentación en la ganadería lechera en México.  
Tesis Profesional. Fac. de Veterinaria, UNAM, México, 1984.
3. Sinha, S. K.  
Las leguminosas alimenticias. Cuaderno técnico de la FAO, estudio FAO: Producción y Protección Vegetal 3.  
FAO, Roma, 1976.
4. Comisión Mixta FAO/OMS del Codex Alimentarius  
Norma Internacional recomendada para alimentos para niños de pecho y niños de edad corta.  
FAO, Roma, 1976.
5. Manjarrez, F. Beatriz  
Procedimiento para la elaboración de una bebida instantánea para infantes, a base de cereales, ajonjolí y soya.  
Tesis Profesional. Fac. de Química, Universidad Iberoamericana, México, 1987.
6. Aarón, M. Altscholl.  
New Protein foods, vol. 2  
Academic Press, New York, 1976.
7. Thomas, A. Anderson, D.  
Commercial infant foods: content and composition.  
Pediatric Clinics of North America, 24 (1), 1977.
8. Herrera, C. José  
Desarrollo de una leche con triple concentración de sólidos totales.  
Tesis Profesional. Fac. de Química, UNAM, México, 1975.



9. Whyte, R. O., Nilsoon-Leissner, G. Trumble, H. C.  
Las leguminosas en la agricultura. FAO, estudios agrope  
cuatrios No. 21.  
FAO, Belgrado, 1968.
10. Lees, Paul  
El guisante.  
Agricultura de las Américas, 6:4-8, 1985.
11. Pea flour and pea protein concentrate, PFPS.  
Bull No. 1, Prairie Regional Laboratory, National Research  
Council, and College of Home Economics, University of Sas-  
katchewan, Saskatoon, Canadá, 1974.
12. Nelly, P., Barja, I.  
Composición Química, contenido de tóxicos, calidad y valor  
protéico de semillas de arveja, garbanzo y lentejas culti  
vadas en Chile.  
Ciencia e Investigación Agraria, 1 (2), 1974.
13. Sumner, A. K., Nielsen, M. A., Young, C. G.  
Production and evaluation of pea protein isolate.  
J. of Food Science, 46: 364-367, 1981.
14. Reicherte, R. D., Samuel, L.  
Composition of peas (*Pisum sativum*) varying widely in pro  
tein content.  
J. Agricultura Food Chem., 30 (2), 1982.
15. McWatters, K. H.  
Replacement of miltk protein with protein from cowpea and  
field pea flours in baking powder biscuits.  
Cereal Chem., 57 (3), 1980.
16. Ultrafiltración: nueva tecnología.  
Industrias Lácteas, 32 (2), 1983.
17. Olano, A.  
Recientes aplicaciones de la ultrafiltración y la ósmosis  
inversa en la industria láctea.  
Industrias Lácteas, 30 (6), 1981.

18. Bourges, H., Chávez, A., Arroyo, P.  
Recomendaciones de nutrimentos para la población mexicana.  
Publicación L-17, I. N. N., México, 1970.
19. Hernández, M., Chávez, A., Bourges, H.  
Valor nutritivo de los alimentos mexicanos.  
I.N.N.S.Z., México, 1987.
20. Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists.  
Washington, D.C., 1980.
21. Ibid, method No. 14.003.
22. Ibid, method No. 14.004.
23. Ibid, method No. 14.006.
24. Ibid, method No. 2.057
25. Ibid, method No. 7.065
26. Ibid, method No. 7.056
27. Ibid, method No. 26.134
28. Ibid, method No. 16.021
29. Comisión Mixta FAO/OMS del Codex Alimentarius  
Métodos de Análisis para alimentos para niños de pecho y niños de corta edad.  
FAO, Roma, 1976.
30. Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists.  
Approved Method Committee, Minnesota, 1983.

31. Técnicas generales para análisis microbiológicos  
Secretaría de Salubridad y Asistencia, Dirección General  
de Salud Pública, México, 1978.
32. Kakade, M. L., Rackis, J.J., McGhee, J. E., Puski, G.  
Determination of trypsin inhibitors, activity of soy pro  
ducts: a collaborative, analysis of an improved procedure.  
Cereal Chem, 51 (3), 1974.
33. Monroe, E. E., Wall, E., Rolland, M. L.  
Detection and estimation of steroidal sapogenins in plant  
tissue.  
Anal. Chem., 24 (8), 1952.
34. Webb, L. J.  
An Australian phytochemical survey in alkaloids and cyano  
genetic compounds in Queensland plants.  
Boletín 241, CSITO, Melbourne, 1949.
35. Jaffé, G. Werner, L., González, D.I.  
Isolation and partial characterization of bean phytohemag  
glutinins.  
Phyto. 13: 2685-2693.
36. Moore, S., Stein, W. H.  
Chromatography of aminoacids on sulfatoned polystyrene -  
resins.  
J. Biol. Chem., 6: 192-196, 1951.
37. Spies, J. R., Chambers, D. C.  
Chemical determination of triptophan in proteins.  
Analytical Chem., 21 (10), 1949.
38. Pellet, L., Vernon, R.  
Nutritional evaluation of protein foods  
The United Nations University, Tokyo, 1980.
39. Informe de un Comité Especial Mixto FAO/OMS de Expertos.  
Necesidades de energía y de proteínas.  
FAO, Roma, 1973.

40. Evaluation of preotein quality  
Publication 1100, Nacional Academy of Sciences, Washington  
D.C., 1963.
41. Fabr e, R., Truhaut, R.  
Compendio de toxicología, vol. 2.  
Biblioteca, Caracas, 1962.
42. Lidner, Ernest.  
Toxicología de los alimentos.  
Acribia, Zaragoza, 1987.
43. Bhattay, R. S. Christison, G. I.  
Digestibility of pea proteins by pre-ruminant calves.  
Can. J. Anim. Sci., 60 (6), 1980.
44. Morales, Marcelo QFB.  
Comunicación Personal, I.N.N.S.Z.
45. Código Sanitario.  
Secretaría de Salubridad y Asistencia. Dirección General  
de Salud Pública, México, 1974.
46. Herrador, P. Gerardo  
Suplementación de frijoles con metionina.  
Tesis Profesional. Fac. Química, UNAM, México, 1978.
47. Bailey, A.E.  
Aceites, grasas industriales.  
Reverté, Buenos Aires, 1979.
48. Selter, E., Stiel, M.  
Spray of foods advances in food research, vol. II  
Academic Press, New York, 1949.
49. Fennema, R. O.  
Introducción a la ciencia de los alimentos, vol. I  
Reverté, Madrid, 1982.

50. Ruseelll, W. C., Taylor, T. G.  
The nutritive value of the protein of varieties of legumes  
and the effect of methionine supplementation.  
J. Nutr., 32: 313-325, 1946.
51. Purdon, M. E. , Brown, R. V.  
Biological response of rats fed aminoacid supplemented -  
pedabe diets.  
Arch. Lat. Nutr., 12: 117-128, 1967.
52. La producción de alimentos infantiles mediante la recomb  
nación de leche descremada en polvo, grasa y carbohidratos.  
Industrias Lácteas, 31 (2), 1982.
53. Desrosier, W. Norman.  
Conservación de los alimentos.  
Continental, México, 1986.
54. Duke, James.  
Handbook of legumes of world economic importance.  
Plenum Press, New York, 1981.
55. Alais, Charles.  
Ciencia de la leche.  
CECSA, México, 1970.

## APENDICE "A"

Determinación de Materia Grasa por Extracción Eteroclorhídrica.

## Material:

- . Aparato de extracción de Soxlet o Goldfish
- . Cartucho de celulosa, recolector de vidrio y soporte metálico.
- . Matraz redondo de fondo plano de 250 ml.
- . Perlas de ebullición
- . Matraz erlenmeyer de 500 ml.
- . Embudo
- . Estufa  $103^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$
- . Balanza analítica
- . Desecador
- . Papel filtro
- . Refrigerante

## Reactivos:

- . HCl (2:3)
- . Agua destilada
- . Eter etílico

## Procedimiento:

Pesar  $2\text{g} \pm 0.1\text{g}$  de muestra de un matraz redondo de fondo plano limpio y seco e introducir perlas de ebullición. Añadir 20 ml de HCl (2:3), poner a reflujo a  $100^{\circ}\text{C}$  durante 35-45 minutos.

Filtrar el hidrolizado a través de dos filtros plizados, - recuperando el filtrado en un matraz erlenmeyer de 500 ml, - lavar el filtro varias veces con agua hirviendo hasta obtener un filtrado transparente (aproximadamente 350-400 ml ).

Colocar los filtros en la estufa a 60°C durante 15-20 minutos.

Se colocan los filtros cuidadosamente envueltos en papel filtro, se doblan y se introducen en el cartucho de celulosa, y se procede a efectuar la extracción según el método de Goldfish.

Índice de Solubilidad del Nitrógeno (NSI), Modificación al Método 46-23 del A.A.C.C.

Material:

- . Matraces erlenmeyer de 250 ml
- . Vasos de precipitados de 250 ml
- . Probeta graduada de 100 ml
- . Pipeta volumétrica de 10 ml
- . Frascos de centrifuga de 100 ml
- . Matraces Kjeldahl de 500 ml

Aparatos:

- . Agitador mecánico
- . Agitador magnético
- . Balanza analítica
- . Molino pulverizador Cyclone
- . Centrifuga
- . Potenciómetro

**Reactivos:**

Reactivos utilizados para la determinación de proteína cruda por el método de Kjeldahl

Solución de NaOH y HCl diluidos.

**Procedimiento:**

La muestra utilizada para esta prueba deberá pasar por una malla del número 100.

Pesar  $2.5 \pm 0.01$  g de muestra y pasarlos a un vaso de precipitado de 250 ml, añadir 100 ml de agua destilada a 30°C y disolver la muestra homogéneamente empleando agitación magnética.

Ajustar el pH deseado utilizando solución de NaOH y/o HCl diluidos.

Pasar el contenido del vaso a un matraz erlenmeyer de 250 ml. Colocar el matraz en un agitador mecánico a 120 rpm durante 2 horas y controlando durante este tiempo la temperatura de 30°C.

Al finalizar el tiempo de agitación, pasar el contenido del matraz a un frasco de centrifuga y centrifugar por 15 minutos a 2 000 rpm.

Pipetear 10 ml del sobrenadante y colocarlos en un matraz Kjeldahl para proceder de acuerdo con el método Kjeldahl.



## Cálculos:

$$\cdot \% \text{ Nitrógeno Soluble} = \frac{(\text{Problema-Blanco}) \times \text{N ac.} \times 0.014 \times 100 \times 100}{(\text{peso de la muestra}) \times 10}$$

$$\cdot \% \text{ Nitrógeno Total} = \frac{(\text{Problema-Blanco}) \times \text{N ac.} \times 0.014 \times 100}{\text{peso de la muestra}}$$

$$\cdot \text{Índice de Solubilidad del Nitrógeno (NSI)} = \frac{\% \text{ N Soluble}}{\% \text{ N Total}} \times 100$$

## APENDICE "B"

## Materias Primas:

- . Arvejón, se compró a granel en la Central de Abasto.
- . Aceite de maíz, de Productos de Maíz, S.A.
- . Maltodextrinas, de Complementos Alimenticios, S.A.
- . Lecitina de Soya, de Droguería Cosmopolita, S.A. de C.V.
- . Goma guar, de Química Hércules.
- . DL-metionina, de Sigma de México, S.A.
- . Vitamina A, vitamina D, riboflavina, tiamina, vitamina B<sub>6</sub>, fosfato de calcio dibásico y ortofosfato férrico fueron proporcionados por Laboratorios Roche.

## Aparatos Utilizados de Laboratorio y Planta Piloto

- . Agitador mecánico Lab-Line
- . Analizador automático de aminoácidos Beckman, modelo 116.
- . Aparato de digestión y destilación para determinación de proteína cruda Kjeldahl, LABCONCO, modelo 21233-01.
- . Aparato de extracción de grasa cruda LABCONCO, modelo 35001
- . Balanza analítica Sartorius, modelo 2001 MP2
- . Balanza granataria Triple Beam Balance.
- . Baño metabólico Lab-Line.
- . Centrífuga Beckman, modelo J21B
- . Condensador de fibra cruda LABCONCO, modelo 30001.
- . Equipo micro-titer (Cooke Dinotech).
- . Espectrofotómetro Bausch and Lomb.
- . Estufa de incubación J. M. Ortniz.
- . Estufa de vacío Lab-Line.
- . Estufa de secado GCA.

- . Molino coloidal PUC, con capacidad de 20 lts. y con diferente grado de molienda.
- . Molino de Coronas Thomas Wiley con capacidad 5 kg.
- . Mufia Thermolyne
- . Parrilla con agitador magnético Thermolyne.
- . Potenciómetro Beckman, Zeromatic IV.
- . Secador por aspersión PLA-Fleishman, con capacidad de - - 15-100 lts. sistema de calentamiento por gas combustible y controles de temperatura, volumen de entrada, etc., integrado con una bomba de alta presión Caulin con capacidad - de 3 000 lb/ft<sup>2</sup>.
- . Viscosímetro Brookfield.