

44

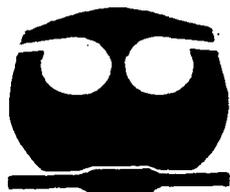


**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MEXICO**

FACULTAD DE QUIMICA

**CARACTERIZACIÓN DE LA HARINA DE AJONJOLI
PARA EL DESARROLLO DE PRODUCTOS
ALIMENTICIOS DESTINADOS AL CONSUMO
HUMANO**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICA DE ALIMENTOS
P R E S E N T A :
CYNTHIA / MEZA HUACUJA



MEXICO, D. F.



**EXAMENES PROFESIONALES
FACULTAD DE QUIMICA**

2002



Universidad Nacional
Autónoma de México



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 esta 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.

Jurado asignado:

Presidente	Natalia Elvira de la Torre Aceves
Vocal	Lucía Cornejo Barrera
Secretario	Maricarmen Quirasco Baruch
1er. Suplente	Alfredo Salazar Zazueta
2º. Suplente	Leticia Gil Vieyra

Sitio donde se desarrolló el tema:

Departamento de Alimentos y Biotecnología, Laboratorio 312, Conjunto E, Facultad de Química, UNAM.

Asesora:



Dra. Maricarmen Quirasco Baruch

Supervisora Técnica:



M. en C. Idalia Flores Argüello

Sustentante:



Cynthia Meza Huacuja

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento:

Al subprograma 127, Formación Básica en Investigación, de la Coordinación de Superación Académica, Facultad de Química, UNAM, por el valioso apoyo brindado para la realización de esta tesis.

A la empresa DIPASA por la donación de la harina de ajonjolí con que se desarrolló el presente estudio.

Al proyecto OMNILIFE-CONACyT 35948-B.

A la Unidad de Experimentación Animal-Centro Harlan por la donación de las ratas para los bioensayos.

A la empresa Arancia Corn Products por la donación del almidón.

A Dios, por concederme la vida, colmarme de bendiciones e iluminar siempre mi camino.

A la Universidad Nacional Autónoma de México y a la Facultad de Química por otorgarme el privilegio de pertenecer a ellas y por brindar en sus recintos una formación de excelencia.

A mi asesora, la Dra. Maricarmen Quirasco y a mi asesora técnica, la M. en C. Idalia Flores, por la orientación y el apoyo sin los cuales este trabajo no sería el mismo.

A las Doctoras Amelia Farrés y Amanda Gálvez, por el apoyo brindado.

A la M. en C. Natalia de la Torre y a la M. en C. Lucía Cornejo, por la revisión de esta tesis y sus valiosos comentarios.

A la M. en C. Isabel Gracia y al personal de la Unidad de Experimentación Animal, Facultad de Química, UNAM por las facilidades otorgadas para la realización de los bioensayos.

A la Profra. Leticia Gil, a Vivian González, a la M. en C. Ana Ma. Obregón, a Isabel, a Ivonne y a Rebeca por su ayuda para la realización de los bioensayos.

Al M. en C. Gerardo Martínez, a la T. Pilar Fernández, a Aída González y al personal del Laboratorio de Análisis Físicos y Químicos del Ambiente, Instituto de Geografía, UNAM.

Con todo mi cariño dedico esta tesis:

A ustedes, mamá e Ivonne, que con los principios que me han inculcado, su amor, comprensión y apoyo incondicionales me han impulsado a lo largo de toda mi vida.

A mis abuelitos Luz María y Víctor, a mis tías Alma, Patricia e Hilda, a mi tío Francisco, a mis primos Kenichi, Víctor, Oscar e Hilda, quienes me han enseñado el verdadero valor de la familia y la unidad.

A mis amigos con quienes he compartido tantos e inolvidables momentos y a quienes espero conservar por siempre.

A los que ya no están a mi lado pero que han dejado una huella valiosa en mí.

A las generaciones que vienen detrás, para que valoren lo que tienen, analicen con criterio y justicia las situaciones que se presenten, sepan asumir sus responsabilidades y luchen permanentemente por superarse.

TABLA DE CONTENIDO

1	RESUMEN	1
2	INTRODUCCIÓN	2
3	MARCO TEÓRICO	4
3.1	PROPIEDADES FUNCIONALES	4
3.1.1	Interacción Proteína-Agua	6
3.1.1.1	Solubilidad	6
3.1.1.2	Capacidad de retención de agua	7
3.1.1.3	Humectabilidad	8
3.1.2	Capacidad de retención de aceite	9
3.1.3	Propiedades de emulsificación	9
3.1.4	Propiedades de espumado	11
3.2	VALOR NUTRITIVO DE LOS ALIMENTOS	12
3.2.1	Proteínas	12
3.2.1.1	Evaluación de la calidad proteínica	13
3.2.2	Fibra dietaria	16
3.2.3	Selenio	18
3.3	GENERALIDADES SOBRE AJONJOLÍ	19
3.3.1	Composición proximal	19
3.3.2	Propiedades funcionales	21
3.3.3	Valor nutricional	21
4	JUSTIFICACIÓN	23
5	OBJETIVO	24
5.1	Objetivos particulares	24
6	METODOLOGÍA	25
6.1	ESTRATEGIA EXPERIMENTAL	25
6.2	MATERIALES Y MÉTODOS	25
6.2.1	Muestra	25
6.2.2	Evaluación Física y Química	26
6.2.2.1	Granulometría	26
6.2.2.2	pH	26
6.2.3	Evaluación Microbiológica	26
6.2.3.1	Cuantificación de Mesófilos Aerobios	26
6.2.3.2	Cuantificación de Coliformes Totales	26

6.2.3.3	Cuantificación de Hongos y Levaduras	27
6.2.4	Evaluación Bromatológica	27
6.2.4.1	Análisis Proximal	27
6.2.4.2	Determinación de Fibra Dietaria	27
6.2.5	Evaluación Nutricional	27
6.2.5.1	Relación de la Eficiencia de la Proteína (PER)	27
6.2.5.2	Relación Neta de la Proteína (NPR)	28
6.2.5.3	Digestibilidad Verdadera (DV)	29
6.2.5.4	Cuenta Química (CQ)	30
6.2.5.5	Digestibilidad <i>in vitro</i> (Di)	30
6.2.5.6	Determinación de Selenio	31
6.2.5.7	Determinación de Factores Antinutricionales	31
6.2.5.8	Determinación de Metales Pesados	31
6.2.6	Evaluación Funcional	32
6.2.6.1	Solubilidad	32
6.2.6.2	Capacidad de Retención de Agua	32
6.2.6.3	Humectabilidad	33
6.2.6.4	Capacidad de Retención de Aceite	33
6.2.6.5	Propiedades de Emulsificación	33
6.2.6.5.1	Índice de Actividad Emulsificante (IAE)	34
6.2.6.5.2	Estabilidad de la Emulsión	34
6.2.6.6	Propiedades de Espumado	35
6.2.6.6.1	Capacidad de Espumado	35
6.2.6.6.2	Estabilidad de la Espuma	35
7	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	36
7.1	EVALUACIÓN FÍSICA Y QUÍMICA	36
7.1.1	Granulometría	36
7.1.2	pH	37
7.2	EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA	37
7.3	EVALUACIÓN BROMATOLÓGICA	38
7.3.1	Análisis Proximal	38
7.3.2	Determinación de Fibra Dietaria	39
7.4	EVALUACIÓN NUTRICIONAL	40
7.4.1	Relación de la Eficiencia de la Proteína (PER) y Relación Neta de la Proteína (NPR)	40

7.4.2	Digestibilidad Verdadera (DV) y Digestibilidad Aparente (DA)	44
7.4.3	Cuenta Química (CQ) y Cuenta Química corregida con Digestibilidad (CQ x DV)	45
7.4.4	Digestibilidad <i>in vitro</i> (Di)	47
7.4.5	Determinación de Selenio	50
7.4.6	Determinación de Factores Antinutricionales	50
7.4.7	Determinación de Metales Pesados	51
7.5	EVALUACIÓN FUNCIONAL	53
7.5.1	Solubilidad	53
7.5.2	Capacidad de Retención de Agua	54
7.5.3	Humectabilidad	54
7.5.4	Capacidad de Retención de Aceite	55
7.5.5	Propiedades de Emulsificación	55
7.5.5.1	Índice de Actividad Emulsificante (IAE)	55
7.5.5.2	Estabilidad de la Emulsión	57
7.5.6	Propiedades de Espumado	59
7.5.6.1	Capacidad de Espumado	59
7.5.6.2	Estabilidad de la Espuma	60
8	PROPUESTA DE APLICACIÓN Y RECOMENDACIONES	64
9	CONCLUSIONES	66
10	ANEXOS	68
10.1	ANEXO I	68
10.2	ANEXO II	70
10.3	ANEXO III	71
11	REFERENCIAS	73

1 RESUMEN

La harina de ajonjolí se obtiene como subproducto industrial del aceite de esta semilla. El interés por su caracterización surgió como parte de la búsqueda de fuentes potenciales de alimento que pretende subsanar la insuficiente producción de alimentos de origen animal que prevalece en países en vías de desarrollo como México, creando a partir de ellas alimentos con características sensoriales aceptables y buena calidad nutrimental, para así cubrir los requerimientos diarios de estas poblaciones, garantizando su salud, bienestar y la conservación misma de la vida.

Por tanto, el objetivo del presente trabajo fue caracterizar a la harina de ajonjolí de manera que se demostrara su potencial como materia prima para el desarrollo de productos alimenticios de alta calidad funcional y nutricional destinados al consumo humano.

Con tal finalidad se analizó la composición y la calidad microbiológica de la harina de ajonjolí. Se efectuó una caracterización nutricional para demostrar su aplicabilidad en productos para consumo humano y se compararon distintos métodos de evaluación de calidad proteínica para determinar cuál proporciona los resultados más representativos de los requerimientos humanos. También fue necesario evaluar los niveles de factores antinutricionales y de dos metales pesados para garantizar su inocuidad. Así mismo se procedió a caracterizar la harina de ajonjolí en cuanto a sus propiedades funcionales para proponer su aplicación en un producto alimenticio.

Los resultados indicaron que esta materia prima tiene una composición de interés nutricional, con un contenido de 41.6% de proteína, 8.49% de fibra dietaria y 0.32mg/kg de selenio. La confrontación de los métodos para la evaluación de la calidad proteínica demostró que la Cuenta Química corregida con Digestibilidad Verdadera reporta la información más apegada a los requerimientos humanos y a partir de éste método se determinó que la calidad de la harina de ajonjolí es de 60.31%. Como resultado de la caracterización funcional, que evidenció una notable capacidad de retención de agua, así como una buena humectabilidad.

Con base en los resultados obtenidos, se propuso su aplicación como ingrediente en la producción de pastas para sopa, en que presentaría tanto ventajas tecnológicas como nutricionales y económicas, ya que contaría con una demanda importante por parte de la población de nuestro país.

De acuerdo con lo anterior, quedó demostrado que la harina de ajonjolí tiene potencial de aplicación como materia prima en productos alimenticios y que proporcionaría diversos beneficios a la alimentación humana.

2 INTRODUCCIÓN

La harina de ajonjolí se obtiene como subproducto durante la producción industrial del aceite de ajonjolí. El interés por su caracterización surgió a partir del esfuerzo que en la actualidad se realiza en torno a la búsqueda de fuentes potenciales de alimento, cuyo objetivo es subsanar la insuficiente producción de alimentos de origen animal que prevalece en países en vías de desarrollo como el nuestro, creando a partir de ellas alimentos con características sensoriales aceptables y además de buena calidad nutrimental, para así cubrir los requerimientos diarios de estas poblaciones, garantizando su salud, bienestar y la conservación misma de la vida.

No obstante la herencia de numerosos modelos de consumo sabiamente integrados a lo largo de milenios y que manifiestan la extraordinaria diversidad geográfica, climática, y cultural del país, la situación que actualmente prevalece en México refleja una amplia disparidad social y económica que repercute en el patrón de alimentación de los distintos segmentos de la población¹.

Desde hace aproximadamente tres décadas se ha reconocido la relación que tiene el ingreso *per capita* con la composición media de la dieta en un determinado país, y desde entonces se ha observado que tanto en sectores poblacionales como en países con bajo ingreso el consumo de alimentos de origen vegetal es predominante¹.

Para el desarrollo de productos alimenticios se deben considerar diversos factores sobre las materias primas, tales como precio, disponibilidad en el mercado, fuente, niveles y naturaleza de nutrimentos, biodisponibilidad, palatabilidad, carga microbiana, presencia de factores antinutricionales, factores tóxicos y alergénicos. Cuando se ha elegido una nueva fuente proteínica, la aplicación específica a la que se destine dependerá de sus propiedades funcionales buscando la obtención de productos atractivos desde un punto de vista tanto sensorial como nutricional. La gran variedad de productos alimenticios obtenidos a partir de soya, oleaginosas y leguminosas es un buen indicador de la factibilidad del uso de algunos vegetales como fuente de alimento, lo que representa una alternativa de menor costo y nutricionalmente comparable desde el punto de vista de la calidad proteínica, que podría solucionar la escasez de fuentes alimenticias de origen animal.

La composición de la harina de ajonjolí es prometedora, ya que posee un alto contenido de proteína y a su vez el perfil de aminoácidos presentes en ésta representa una alta proporción de los requerimientos establecidos por la FAO/WHO/UNU². Con respecto a las alergias alimentarias, el número de casos informados por ajonjolí constituye menos del 1% del total, mientras que del 99% restante, la mayor parte son generados por proteínas de origen animal, siendo por otra parte notable el incremento que se está dando en la incidencia de casos originados por proteína de soya^{3,4}.

El presente trabajo comprendió la caracterización física y química, bromatológica, microbiológica, nutricional y funcional de la harina de ajonjolí y a partir de estos resultados se presentó una propuesta final de aplicación.

3 MARCO TEÓRICO

3.1 PROPIEDADES FUNCIONALES

La **funcionalidad** de los ingredientes alimenticios se define como cualquier propiedad, distinta de las nutricionales, que determina su utilidad en los alimentos, incidiendo de manera especial en las características sensoriales, comportamiento físico y calidad de tales sistemas⁵.

Dado que las proteínas son los principales componentes funcionales de muchos productos alimenticios⁶, sobre todo de aquéllos altos en proteína⁷, se han establecido también definiciones para las **propiedades funcionales** de estos polímeros en particular. En este sentido Kinsella (citado por Damodaran⁶ y Zayas⁷) las define como "aquellas propiedades físicas y químicas que afectan el comportamiento de las proteínas presentes en sistemas alimenticios durante el procesamiento, almacenamiento, preparación y consumo".

La gama de propiedades funcionales que puede ser exhibida por distintas proteínas es muy amplia. En la Tabla 1 se enlistan las más típicas y además se ejemplifican sistemas alimenticios en que la expresión de cada una de ellas es importante.

Tabla 1. Propiedades Funcionales Típicas de Proteínas en Sistemas Alimenticios

Propiedad Funcional	Sistema Alimenticio
Solubilidad	Bebidas
Absorción y retención de agua	Carnes, salchichas, productos de panificación
Viscosidad	Sopas, salsas
Gelificación	Carnes, cuajos, queso
Cohesión y adhesión	Carnes, salchichas, productos de panificación, pastas para sopa
Elasticidad	Carnes, productos horneados
Emulsificación	Salchichas, sopas, pasteles
Absorción de lípidos	Carnes, salchichas, donas
Retención de sabor	Imitaciones de carne, productos de panificación
Espumado	Merengues, postres, pasteles

Fuente: Ref. 8

En la literatura se pueden encontrar distintos modelos para la clasificación de las **propiedades funcionales** de las proteínas en relación con sus propiedades fisicoquímicas, sin embargo un modelo esquemático que las representa de un modo simple es el que se muestra en la Figura 1 donde se dividen en tres categorías que son: propiedades de unión, propiedades de textura y propiedades de superficie. En ésta figura se observa la interrelación que existe entre ciertas propiedades, de donde se infiere que para que algunas de ellas se expresen es necesario que se manifiesten otras previamente aunque sea de manera parcial, siendo la **absorción de agua** y la **solubilidad** quienes generalmente se presentan primero, hecho que demuestra la relación existente entre la interacción con el agua y el desarrollo de muchas propiedades funcionales. La **solubilidad** sin embargo, no queda incluida en ningún grupo sino como un estado intermedio pero que puede ser un indicador importante de otras propiedades de la proteína.

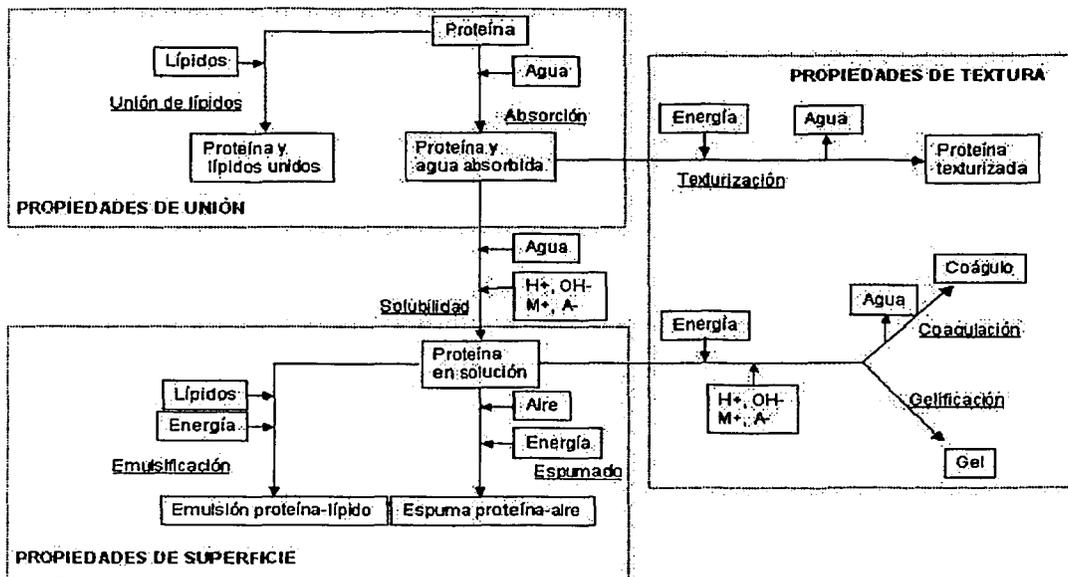


Figura 1 Algunas propiedades funcionales típicas de las proteínas y su interrelación. H⁺ = ácido, OH⁻ = base, M⁺ = catión, A⁻ = anión
Fuente: Ref. 8

La **funcionalidad** de las proteínas en alimentos está determinada por factores físicos y químicos tanto intrínsecos como ambientales y además por los que son propios de los tratamientos a los cuales se someten durante su procesamiento^{7,8}. Los factores considerados como intrínsecos son: la secuencia de aminoácidos, conformación, forma y tamaño de la proteína, carga neta, distribución de carga, hidrofobicidad o hidrofiliidad, flexibilidad de la molécula y rigidez en respuesta al ambiente. Entre los factores ambientales se encuentran: el pH, la temperatura, la fuerza iónica, la presencia de agentes oxidantes o reductores y de otros componentes como agua, lípidos, hidratos de carbono, sabores, así como de otras proteínas con quienes puede o no interactuar. Por último los factores introducidos durante el procesamiento pueden causar cambios conformacionales y son: pH, sales, agentes oxidantes o reductores, distintos grados de desnaturalización por tratamiento térmico, calentamiento y secado, modificaciones físicas, químicas o enzimáticas, y en el caso de proteínas vegetales el método de desgrasado, el disolvente utilizado y la temperatura de extracción^{7,8}.

Debido a la influencia de los factores antes mencionados, hasta el presente ha sido imposible predecir el comportamiento **funcional** de una proteína en un sistema complejo partiendo únicamente del conocimiento de su estructura y de algunas propiedades fisicoquímicas determinadas en modelos

simples, por lo tanto es necesario el empleo de metodologías para evaluar experimentalmente la funcionalidad potencial de nuevas fuentes proteínicas, lo que permitirá ya sea definir aplicaciones alimenticias en que éstas se exploten, o demostrar su utilidad como sustitutos de proteínas convencionales^{5,6,7}.

Por otro lado es importante entender la correlación que existe entre las condiciones de procesamiento y las **propiedades funcionales** de productos tales como harinas, concentrados y aislados proteínicos para así diseñar los procesos industriales mediante los cuales se obtienen controlando entonces la funcionalidad de los productos finales⁷.

Como ya se ha demostrado el campo de las **propiedades funcionales** es muy amplio, razón por la cual en las siguientes secciones se revisarán brevemente sólo aquellas propiedades que fueron determinadas experimentalmente como parte de esta tesis.

3.1.1 Interacción Proteína-Agua

La estructura nativa de una proteína es en parte consecuencia de su interacción con el agua, componente que se encuentra naturalmente presente en todo material biológico y alimenticio⁶. Además muchas de las **propiedades funcionales** pueden entenderse como manifestaciones de dicha interacción. El grado en que predominen las interacciones proteína-agua o proteína-proteína determina que la proteína actúe como dispersión coloidal, precipitado insoluble o gel⁷.

Las moléculas de agua se unen a grupos polares y no polares de las proteínas a través de interacciones tipo dipolo-dipolo, carga-dipolo, o dipolo-dipolo inducido. Los residuos de aminoácido con carga (lisina, arginina, ácido glutámico, y ácido aspártico) ligan 6 moléculas de agua cada uno, mientras que los polares sin carga (serina, treonina, glutamina y asparagina) ligan 2 y los no polares ligan 1. Cabe señalar que los que participan predominantemente son los que se encuentran en la superficie de la proteína⁶.

3.1.1.1 Solubilidad

La **solubilidad** de una proteína se entiende como la cantidad de ésta proveniente de una muestra y que se encuentra finamente dispersa, formando un sistema coloidal bajo condiciones específicas⁷. Es la propiedad que generalmente se determina primero al estudiar la **funcionalidad** de nuevas fuentes proteínicas debido a que afecta otras propiedades funcionales tales como el espesamiento, el **espumado**, la **emulsificación** y la gelificación, proporcionando así información sobre su uso potencial⁶. La **solubilidad** es además una de las características principales de las proteínas utilizadas en alimentos líquidos y bebidas⁷. La evaluación de esta propiedad resulta de utilidad para el diseño de métodos efectivos de extracción y purificación de proteínas⁵.

Se ha sugerido que la hidrofobicidad media y la distribución de cargas son dos factores fundamentales que determinan la **solubilidad**, aunque también se ha precisado que son únicamente las características

superficiales quienes tienen influencia⁶. Otros factores que influyen directamente son la temperatura y el tipo de disolvente utilizado, así como las condiciones de extracción y posterior procesamiento de la proteína⁷.

En disoluciones acuosas, la **solubilidad** de las proteínas depende a su vez del pH. Por encima y debajo del pH isoelectrico la carga neta crea repulsiones electrostáticas e hidratación que promueven la solubilización de la proteína. En el punto isoelectrico, la repulsión e hidratación son mínimas y la interacción entre partes no polares superficiales es máxima, lo que ocasiona que las proteínas precipiten, aunque existen algunas excepciones como las proteínas del suero, α -lactalbúmina y β -lactoglobulina, las cuales son altamente solubles a dicho pH⁶.

Por otra parte, la presencia de sales afecta la **solubilidad** de las proteínas. A baja fuerza iónica (<0.5M) la solubilidad de proteínas con gran número de parches hidrofóbicos disminuye (fenómeno conocido como salting out) mientras que al aumentar la fuerza iónica se incrementa la de proteínas que poseen gran cantidad de grupos hidrofílicos superficiales (fenómeno denominado salting in)⁶.

Los ensayos más frecuentemente utilizados para evaluar la **solubilidad** de una proteína son el Índice de Solubilidad de Nitrógeno⁹ y el Perfil de Solubilidad, ambos en función del pH⁵, los cuales tras la solubilización de muestras a distintos valores de pH, requieren de la recuperación del sobrenadante separado mediante centrifugación, y la determinación del contenido ya sea de nitrógeno o de proteína, expresando entonces la solubilización como el porcentaje de lo que se solubilizó en relación con la cantidad inicialmente suspendida de nitrógeno o de muestra según sea el caso.

3.1.1.2 Capacidad de retención de agua

La **capacidad de retención de agua** de los alimentos puede definirse como la habilidad para retener su propia agua y la añadida durante la aplicación de fuerzas, presiones, centrifugación o calentamiento⁷. No existe un consenso en cuanto a la terminología adecuada para referirse a esta propiedad, algunos autores incluso señalan que los términos **retención de agua**, **unión de agua**, **absorción de agua** e **hidratación** se utilizan indistintamente en la literatura¹⁰.

La **retención de agua** como ya se mencionó anteriormente es un factor que determina el desarrollo de otras propiedades funcionales. Para la incorporación de fuentes proteínicas en la mayor parte de los productos alimenticios se requiere que posean esta propiedad en cierta medida, lo que a su vez influye en el orden de adición de los ingredientes secos. La **retención de agua** además desempeña un papel importante en la percepción de textura principalmente de productos cárnicos y de panadería, así como en los atributos de calidad fisicoquímica y microbiológica de otros productos terminados. Determina también el tipo de empaque necesario para mantener la humedad y la vida útil de los mismos⁷. Por otro lado, esta propiedad incide sobre las ganancias que los productos alimenticios generan ya que una gran

cantidad de ellos contienen más de 50% de agua llegando hasta 95% en ciertos casos, razón por la que una buena **retención de agua** es esencial¹¹.

Los factores que influyen en la **capacidad de retención de agua** son la concentración de la proteína, el pH, la fuerza iónica, la temperatura, la presencia de otros componentes como polisacáridos, lípidos y sales, tratamientos térmicos y condiciones de almacenamiento⁷.

Para caracterizar la **capacidad de retención de agua** se mide la cantidad de agua que es retenida por una muestra sólida en presencia de un exceso de agua. Distintos métodos se han aplicado observando el comportamiento de la muestra en diferentes situaciones, ya sea exponiéndola a presión, o a condiciones normales de procesamiento, estudiando su microestructura, incluso determinando mediante métodos espectrométricos el estado y posición del agua en la muestra¹¹. El método aprobado por la American Association of Cereal Chemists (AACC) utiliza adiciones en incremento de agua destilada sobre una muestra de peso conocido, que luego se mezclan para producir una pasta, la cual es posteriormente centrifugada a 2000 X g durante 10 minutos lo que acelera la separación, desechando el sobrenadante y pesando la pasta restante⁷. La principal desventaja de métodos como éste, es que si parte del sólido se disuelve en el líquido, se podría desechar con el sobrenadante, conduciendo a una subestimación de la **capacidad de retención de agua**. Lo anterior ha sido discutido por Quinn y Paton¹⁰, quienes han sugerido la modificación que se aplicó en esta tesis, que consiste en determinar el volumen de agua que no produzca sinéresis y el inmediato siguiente que sí lo haga, en vez de descartar el sobrenadante para determinar la diferencia de peso.

3.1.1.3 Humectabilidad

La **humectabilidad** se entiende como la capacidad de una proteína en polvo para hidratarse rápidamente y producir una dispersión fina y uniforme. Esta propiedad es relevante en la elaboración de bebidas y pastas que se producen al mezclar el polvo con agua⁷.

La **humectabilidad** se da de manera secuencial a través de la interacción con el agua, iniciando con la formación de una monocapa que rodea toda la superficie polar de la proteína en polvo tras la adsorción de agua. El progreso de ésta adsorción se da mediante la construcción de múltiples capas de agua que interaccionan entre sí y por último resulta en la solubilización de la proteína. La velocidad de humectación está determinada por el tamaño de las partículas y la cantidad de grupos polares en la superficie⁷.

La evaluación de esta propiedad consiste en la observación del comportamiento de una muestra al momento en que ésta se pone en contacto con el agua, así como del estado del sistema después de permanecer 30 min en reposo y lo que ocurre al ser sometido a una agitación. Los parámetros sugeridos

por Balmaceda *et al*¹² para evaluar la **humectabilidad** de muestras de fuentes proteínicas se resumen en la Tabla 2.

Tabla 2. Parámetros para la evaluación de la humectabilidad de fuentes proteínicas

	Comportamiento al entrar en contacto con el agua	Estado del sistema tras 30 min de reposo, y después de agitar
Excelente	Se humedece inmediatamente	Se encuentra totalmente dispersa
Buena	Se humedece ligeramente	Una parte está dispersa y otra ha sedimentado, pero se dispersa al ser agitada
Escasa	Se humedece poco y tiende a formar grumos manteniéndose en la superficie	Sigue en la superficie pero un poco se ha dispersado, al agitar se dispersa la mayor parte pero al suspender la agitación aún quedan algunos grumos
Pobre	Difícilmente se humedece y forma grumos	La dispersión es casi imperceptible y los grumos permanecen en la superficie, la agitación no los dispersa y al suspenderla vuelven a flotar

Fuente: Ref. 12

3.1.2 Capacidad de retención de aceite

La **retención de aceite** de una proteína se refiere a su capacidad para absorber y unir físicamente una cantidad determinada de aceite o grasa⁷. Esta propiedad es responsable de impartir ciertas características de textura y palatabilidad a los alimentos, repercute en la absorción de sabores, así como en la preparación de pastas para panificación y de productos cárnicos.

Se ha señalado que los sitios donde ocurre principalmente la interacción proteína-lípido son las cadenas no polares de las proteínas, de modo que las que son insolubles e hidrofóbicas poseen una **capacidad de retención de aceite** alta. Las uniones involucradas en esta interacción comprenden además de las de carácter hidrofóbico, a las electrostáticas y a los puentes de hidrógeno⁷.

Esta propiedad se ve afectada por distintos factores, como son: la concentración de la proteína, el número de regiones no polares, el tamaño de partícula, las interacciones con hidratos de carbono, la temperatura, las condiciones de procesamiento.

La **capacidad de retención de aceite** puede ser evaluada utilizando procedimientos similares a los usados para la **capacidad de retención de agua** con la única diferencia de adicionar aceite de maíz en vez de agua, como se hizo en el presente estudio. También es común evaluar las pérdidas que se producen durante distintas etapas del procesamiento, calculando entonces el rendimiento final¹¹.

3.1.3 Propiedades de emulsificación

Las **propiedades de emulsificación** de una proteína se relacionan con su capacidad para participar en la **formación y estabilización** de mezclas heterogéneas de dos líquidos inmiscibles recién creadas. En sistemas alimenticios pueden presentarse dos tipos de emulsiones, dependiendo de cual sea la fase

dispersa y cual la continua: aceite en disolución acuosa (O/W por sus iniciales en inglés) y disolución acuosa en aceite (W/O), sin embargo debido a la naturaleza predominantemente hidrofílica de las proteínas, este segundo tipo de emulsiones no es eficazmente **estabilizado** por polipéptidos⁵. Algunos ejemplos de emulsiones alimenticias son los productos lácteos y algunos cárnicos^{5,7}.

En sistemas acuosos, la **solubilidad** de la proteína es uno de los factores moleculares que inciden sobre estas propiedades ya que es requerida en cierto grado para lograr la formación de una película elástica en la interfase, aunque no es indispensable que se manifieste al 100%¹³.

Las **propiedades de emulsificación** se pueden describir mejor mediante tres características: La **capacidad emulsificante**, la **estabilidad de la emulsión**, y la **actividad emulsificante**. La **capacidad emulsificante** de las proteínas se refiere al volumen de aceite que puede ser emulsificado bajo condiciones específicas por gramo de proteína, depende de la forma, carga e hidrofobicidad de las mismas. La **estabilidad de la emulsión** indica la capacidad de la fase dispersa para evitar la separación, ya sea por desnatado, coalescencia o floculación, estando en función de la habilidad de la proteína para adsorberse en la interfase y para reducir la tensión superficial así como del impedimento estérico que ésta genere. La ausencia de tensoactivos de bajo peso molecular que desplacen a las proteínas de la interfase, la presencia de hidrocoloides que aumenten la viscosidad de la fase acuosa, y el tamaño de los glóbulos de aceite, son otros factores que influyen en la **estabilidad de una emulsión**¹³. La **actividad emulsificante** por su parte indica el área interfacial máxima por gramo de proteína de una emulsión estable⁷.

Diversos factores afectan dichas emulsiones, tales como el tipo de equipo utilizado para producirlas, el volumen de la fase lipídica, el tipo de lípido, la temperatura, el pH, la fuerza iónica, la presencia de hidratos de carbono, entre otros⁵.

El mejor indicador de la calidad de la emulsión es la estimación microscópica del tamaño del glóbulo disperso¹⁴. También existen métodos empíricos para determinar la **capacidad de emulsificación**, el volumen de la fase lipídica, y la **estabilidad de la emulsión**. La **actividad emulsificante** es un término que se utiliza en distintos contextos, por un lado se determina mediante la distribución de tamaño de partícula de la fase dispersa, y por otro lado puede ser determinado mediante métodos turbidimétricos expresándose como medida del área interfacial estabilizada¹⁵, como fue el caso en el presente trabajo y lo que concuerda con la definición anteriormente planteada. El método para evaluar la **capacidad de emulsificación** por su parte, mide el volumen máximo de aceite agregado antes de invertir la emulsión. Para la determinación de la **estabilidad de la emulsión** comúnmente se busca la separación del aceite o crema de una emulsión durante un periodo determinado, a una cierta temperatura y sometido a un campo gravitacional dado¹⁵. En el presente estudio se aceleró la separación mediante la aplicación de la fuerza centrífuga.

3.1.4 Propiedades de espumado

Las **propiedades de espumado** de las proteínas están relacionadas con la capacidad de éstas para formar sistemas estables de dos fases que consisten en celdas de aire que se encuentran separadas por medio de una lámina delgada y continua ya sea en fase líquida o semisólida⁵. Estos sistemas son comúnmente complejos incluyendo además tensoactivos y en ocasiones hasta componentes sólidos⁷. La distribución del tamaño de las celdas influye tanto en la apariencia como en la textura de los productos alimenticios. Ejemplos comunes de éstos son los helados, merengues, pasteles, crema batida, malvaviscos, etc⁶.

Durante la **formación de espumas** se verifican tres etapas. Primero las proteínas solubles se difunden a la interfase aire/agua, y al concentrarse en ella reducen la tensión superficial. Posteriormente las proteínas localizadas en la interfase se desdoblan reorientando sus regiones hidrofílicas hacia el agua y las hidrofóbicas hacia la fase gaseosa. Por último los polipéptidos interaccionan para formar una película, ocurriendo una desnaturalización parcial^{7,13}.

La **estabilidad de la espuma** contra el drenado de líquido por acción de la gravedad que se verifica al acercarse unas celdas a otras, está determinada por el grosor de la película, la fuerza mecánica, las interacciones proteína-proteína y factores ambientales como el pH, la temperatura, la presencia de hidratos de carbono, proteínas insolubles y la fuerza iónica⁷. Así mismo la **estabilidad** contra el fenómeno de Ostwald por el cual el gas de las burbujas pequeñas se transfiere a las grandes, depende también del grosor de la película y de la solubilidad del gas en éste. En cuanto a la ruptura de la película, su grosor, la tensión superficial y la elasticidad de la proteína son los factores que retrasan el crecimiento de la perforación que en este caso se forma por nucleación¹³.

Muchos otros factores determinan las **propiedades de las espumas**, entre otros el equipo utilizado para producirlas, el método de agitación, la velocidad, el tiempo, así como el procesamiento de la fuente proteínica⁷.

Las espumas son sistemas dinámicos cuyo estudio es difícil, sin embargo, se pueden realizar mediciones directas del volumen y tiempo de vida de éstas, así como del volumen de drenado y distribución de tamaño de las celdas¹⁶. En la presente investigación por ejemplo, la medición del volumen de la espuma se utilizó para calcular el volumen de incremento conocido también como overrun⁵, constituyendo éste un indicador de la **capacidad de espumado**, mientras que el volumen del sistema se monitoreó para determinar la **estabilidad de la espuma**. Además existen métodos indirectos, que estudian la interfase en sistemas simples, encontrándose entre éstos la medición de la tensión superficial, viscosidad y elasticidad de la superficie, observación microscópica de la película y la determinación de propiedades intrínsecas de la proteína¹⁶.

3.2 VALOR NUTRITIVO DE LOS ALIMENTOS

La alimentación es un proceso biológico común a los organismos vivos y que en el ser humano adquiere una enorme complejidad presentando un marcado carácter psicológico, emocional, cultural y social¹.

La nutrición es la ciencia que comprende todos aquellos procesos mediante los cuales el organismo recibe y utiliza los nutrientes aportados por los alimentos. Sus tres objetivos principales son el aporte de la energía requerida para realizar todas las funciones vitales, la formación y mantenimiento de estructuras desde el nivel celular hasta el grado más complejo de composición corporal y la regulación de todos los procesos metabólicos¹⁷.

Para que lo anterior ocurra es necesario suministrar con los alimentos las cantidades adecuadas de lípidos, proteínas, hidratos de carbono, minerales y vitaminas de modo que se eviten deficiencias o excesos, se mantenga un peso adecuado y se impida la aparición de enfermedades relacionadas con la nutrición¹⁷.

En las secciones subsecuentes se abordarán con más detalle aquellos macro y micronutrientes que tienen relación directa con la presente tesis.

3.2.1 Proteínas

Las proteínas además de intervenir en el desarrollo de atributos sensoriales, como se mencionó en la sección 3.1, efectúan un papel importante en el aspecto nutricional⁶, principalmente proporcionando nitrógeno y aminoácidos que podrán ser utilizados para la síntesis de proteínas y otras sustancias nitrogenadas. Las proteínas en el organismo cumplen una gran cantidad de funciones, ya que no sólo participan en la formación de estructuras corporales, sino que también colaboran en la regulación de la actividad celular como es el caso de enzimas, neurotransmisores y algunas hormonas. Además intervienen en la defensa frente a la invasión de otros organismos ya sea como anticuerpos o como factores de coagulación. Así mismo existen numerosas proteínas cuya función es de transporte ya sea entre órganos o a través de la membrana celular. Por último cuando se ingieren aminoácidos en exceso ó cuando el aporte de hidratos de carbono y grasa de la dieta no es suficiente para cubrir las necesidades energéticas se utilizan en la producción de energía¹⁷.

Los aminoácidos de origen proteínico son veinte, con configuración L, de los cuales ocho son considerados como indispensables para los adultos ya que deben ser suministrados por la dieta porque su velocidad de síntesis en el organismo humano es despreciable, los cuales son: leucina, isoleucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptofano y valina. Los niños requieren además de histidina. El resto de los aminoácidos son denominados dispensables porque el organismo puede sintetizarlos eficazmente a partir de los indispensables, siendo estos: glicina, alanina, ácido aspártico, ácido glutámico, asparagina, glutamina, arginina, cisteína, prolina, tirosina y serina^{5,17}.

Existen dos factores que determinan el valor nutricional de fuentes proteínicas en cuanto a que éstas cubran los requerimientos de nitrógeno y aminoácidos garantizando un crecimiento y mantenimiento adecuado del individuo, que son: el contenido proteínico y la calidad de la proteína^{5,17}. Respecto al primero se ha sugerido que en los alimentos que forman la base de la dieta, el porcentaje debe asemejarse al de los cereales (8-10%) para satisfacer las necesidades proteínicas de los adultos en tanto se consuma una cantidad adecuada para cubrir los requerimientos energéticos. En lo referente a la calidad de la proteína, ésta depende tanto de la proporción de aminoácidos indispensables que contiene en relación con los requerimientos humanos, como de la biodisponibilidad de los mismos, término que se refiere a la capacidad para incorporar los aminoácidos de la dieta a las estructuras corporales y que puede verse afectada tanto por una mala digestión como por una absorción incompleta⁵.

Existen varios factores que pueden ocasionar una baja biodisponibilidad de aminoácidos, tales como la inaccesibilidad de la proteína a las proteasas debida a su conformación, la dificultad para digerir proteínas que fijan metales, lípidos o celulosa, la presencia de factores antinutricionales que también la reduzcan, el tamaño y área superficial de la proteína y el procesamiento al que haya sido previamente sometida⁵.

En general se reconoce que las proteínas de origen animal son de mejor calidad que las de origen vegetal⁵, sin embargo se sostiene que las provenientes de leguminosas a pesar de ser ligeramente deficientes en metionina tienen una calidad aceptable¹⁷. Las proteínas halladas en oleaginosas carecen de metionina y lisina, y las de los cereales carecen de lisina, triptofano y treonina. Adicionalmente se ha señalado que la biodisponibilidad de aminoácidos de origen animal es generalmente mayor que la de aquéllos de origen vegetal⁵.

Las deficiencias en aminoácidos de una fuente proteínica pueden corregirse mediante dos estrategias: ya sea administrando en la dieta proteínas cuya composición de aminoácidos sea complementaria, o suplementándola con aminoácidos libres. Si se opta por la segunda alternativa es necesario controlar la adición del L-aminoácido libre ya que una suplementación excesiva puede producir un antagonismo aminoacídico o incluso producir efectos tóxicos⁵.

3.2.1.1 Evaluación de la calidad proteínica

La medición más exacta de la calidad de nuevas fuentes proteínicas para uso humano se obtiene mediante estudios clínicos realizados en sujetos miembros de una población dada, en los que se mide ya sea el crecimiento u otros indicadores metabólicos, como es el caso del Balance de Nitrógeno (NB) en que se evalúa el nitrógeno retenido. No obstante esta clase de análisis no pueden llevarse a cabo de manera rutinaria tanto por razones de ética como de costo, por lo que ha sido necesario desarrollar otro tipo de técnicas, tales como bioensayos, métodos químicos, métodos enzimáticos y métodos microbiológicos^{5,18,19}.

Los bioensayos se basan ya sea en la determinación del crecimiento o en la retención de nitrógeno, en función del consumo de proteína, en donde las ratas son los animales experimentales más utilizados. Los métodos químicos por su parte miden el contenido de aminoácidos indispensables y lo comparan con los patrones de referencia. Los métodos enzimáticos estiman la digestibilidad de la proteína *in vitro* mediante la acción de proteasas. Los métodos microbiológicos evalúan el crecimiento de microorganismos cuyos requerimientos de aminoácidos indispensables son similares a los del ser humano⁵.

Entre los estudios que se han desarrollado la Relación de la Eficiencia de la Proteína (PER) es un bioensayo que ha sido ampliamente utilizado desde 1919, mediante el cual se evalúa la ganancia de peso por gramo de proteína consumido, verificada por ratas jóvenes a las cuales se les administra una dieta de prueba²⁰. Se requirieron estudios colaborativos para estandarizar ciertos parámetros como cantidad de proteína, duración del ensayo, etc. ²¹, finalmente al ser publicado en el AOAC²² como se verá en la sección 6.2.5.1 se definió entre otras cosas la duración de 28 días del ensayo y la composición de la dieta, que se prepara con un contenido proteínico del 10%. No obstante después de dicha publicación se han realizado distintos estudios buscando obtener una mayor precisión²³. A pesar de ser un método oficial en Estados Unidos y Canadá, ha causado una gran controversia tras décadas de uso. Se ha postulado que no es adecuado para la evaluación de nuevas fuentes proteínicas, principalmente porque los valores obtenidos entre sí no son directamente proporcionales a la calidad, lo que se debe a que no considera la contribución de la proteína al mantenimiento del organismo^{18,19}.

Existe otro bioensayo, desarrollado en 1957 y conocido como Relación Neta de la Proteína (NPR) cuya duración original era de 10 días aunque tras estudios más recientes se ha recomendado extenderlo hasta 14 días²⁴. En éste se incluye un lote de ratas al cual se le administra una dieta sin nitrógeno, y al que se hace referencia como grupo metabólico. Se considera que la pérdida de peso de este lote es un indicador de la proteína requerida para el mantenimiento de los lotes de prueba, expresando entonces el valor de NPR como el incremento de la ganancia de peso del grupo de prueba más el valor absoluto de la pérdida de peso del grupo metabólico, dividida entre la proteína consumida por el grupo de prueba. A pesar de haberse sugerido su inclusión como método oficial tras demostrarse una mayor precisión que la obtenida mediante el PER y una mejor exactitud al tomar en cuenta el mantenimiento²⁴, esto nunca ocurrió y otras variantes fueron desarrolladas. El R-NPR ha sido calculado por algunos investigadores como el porcentaje del NPR de la proteína de prueba con respecto al de la caseína encontrando una mayor reproducibilidad en los resultados²⁴, sin embargo otros autores han sugerido hacer este cálculo pero usando una dieta con caseína suplementada con metionina como referencia al reconocer que los requerimientos de aminoácidos azufrados de las ratas no son cubiertos por una dieta con 10% de proteína proveniente de caseína Animal National Research Council (ANRC)²⁵. Más adelante se introdujo un nuevo cálculo, el CRNPR²⁶, que trató de corregir la subestimación de la calidad de proteínas de prueba debido a

la diferencia en el requerimiento de aminoácidos azufrados entre ratas y humanos, multiplicando el valor del R-NPR por un factor constante de 1.5, lo cual ha sido criticado por no discriminar entre distintos niveles de deficiencia de aminoácidos azufrados¹⁹.

Existen otros bioensayos como la Utilización Neta de la Proteína (NPU) que evalúa el nitrógeno corporal en función del ingerido²⁰, y dos métodos en que se estima la pendiente de la curva de crecimiento de ratas en respuesta a la administración de diferentes niveles de proteína y que son el Valor Relativo de la Proteína (RPV) y el Valor Relativo del Nitrógeno (RNV), cuyo utilización no es útil como métodos rutinarios debido a la dificultad experimental que representan y en el caso de los dos últimos la necesidad de aplicación de métodos estadísticos complejos²⁴.

Teóricamente una mejor manera de evaluar la calidad de una proteína sería analizando químicamente su contenido de aminoácidos y comparándolo con los requerimientos de los humanos¹⁹. En la práctica durante mucho tiempo no se contó con los medios para determinar de manera reproducible la composición aminoacídica de las proteínas, ni tampoco los requerimientos humanos con exactitud, sin embargo las dificultades fueron superadas y en 1985 se publicó un patrón basado en el requerimiento de aminoácidos indispensables de niños en edad preescolar así como los requerimientos de otros grupos concretos, por parte de la FAO/WHO/UNU². En la Tabla 3 se muestran los correspondientes a niños preescolares y adultos. Este avance posibilitó la utilización de la Cuenta Química (CQ), mediante la cual se calcula el cociente del contenido de cada aminoácido indispensable de la proteína de prueba, entre el contenido del mismo aminoácido en el patrón para niños preescolares, donde aquél que presente el menor cociente se conoce como aminoácido limitante, siendo éste quien determina el valor de la CQ⁵. Cabe aclarar que éste sería válido para niños y adultos, mientras que para lactantes debe de utilizarse otro patrón cuya composición se basa en la de la leche humana.

No obstante, tal como se había discutido anteriormente, la biodisponibilidad de los aminoácidos depende de la digestibilidad de cada proteína. Por ello también se han desarrollado diferentes técnicas para su evaluación, tal como la Digestibilidad Verdadera (DV)²⁷, en que se determina la cantidad de nitrógeno absorbida por ratas con respecto a la ingerida, al administrar una dieta con 10% de proteína y descontando el nitrógeno excretado por un grupo metabólico, técnica que fue adoptada por el AOAC²⁸.

Como alternativas más simples que el bioensayo existen distintos métodos enzimáticos para estimar la Digestibilidad *in vitro* ya sea por una caída de pH tras la adición de una mezcla enzimática, o según la cantidad de NaOH requerida para mantener constante un cierto valor de pH durante la digestión. La utilidad de estas técnicas se ha reconocido²⁹ pero a pesar de ello no se les ha utilizado muy ampliamente porque no puede asumirse que todos los aminoácidos liberados a partir de la digestión *in vitro*, serán absorbidos y utilizados al ingerir el alimento que contenga la proteína en cuestión³⁰.

Tabla 3. Patrón de referencia basado en los requerimientos de aminoácidos indispensables de niños preescolares (2-5 años) y requerimiento de adultos

Aminoácido esencial	Patrón General (mg _{aa} /g _{proteína})	Requerimiento de adultos (mg _{aa} /g _{proteína})
Histidina	19	16
Isoleucina	28	13
Leucina	66	19
Lisina	58	16
Metionina y cistina	25	17
Fenilalanina y tirosina	63	19
Treonina	34	9
Triptofano	11	5
Valina	35	13

Fuente: Ref. 2

Debido al gran conocimiento generado en torno a la evaluación de la calidad de nuevas fuentes proteínicas, la necesidad de encontrar un consenso sobre el método más representativo de los requerimientos humanos de aminoácidos indispensables fue causa de numerosas consultas tanto por parte del Comité de Proteínas Vegetales del Codex Alimentarius como por parte de la FAO/WHO, quienes tras analizar toda la información, coincidieron en reconocer que lo más apropiado hasta el presente es efectuar una corrección a la CQ, multiplicando dicho valor por el de la DV^{18,19} siguiendo los lineamientos descritos anteriormente.

3.2.2 Fibra dietaria

La fibra dietaria, de acuerdo con la definición más ampliamente aceptada en Estados Unidos^{31,32}, comprende a la lignina y aquellos polisacáridos resistentes a hidrólisis enzimática de las secreciones endógenas del tracto digestivo de los humanos. En la práctica, sin embargo, se incluyen no sólo los componentes de las paredes celulares, es decir lignina, hemicelulosa, celulosa y pectina sino que también los mucílagos, los polisacáridos de origen algal e incluso la celulosa modificada, ciertos tipos de almidón no digeribles, productos de reacciones de Maillard, etc.^{33,34,35,36}. El término fibra insoluble teóricamente incluye a la celulosa, hemicelulosa y lignina, mientras que fibra soluble se refiere al resto de los polisacáridos antes mencionados.

No obstante su resistencia a las enzimas humanas, la fibra dietaria puede ser parcialmente degradada por las bacterias del colon, produciendo ácidos volátiles y otras sustancias que pueden ser absorbidas por el intestino^{17,34}.

Dada la diversidad de compuestos que comprende la fibra, se han desarrollado un gran número de metodologías para el análisis de su contenido en los alimentos. Tales métodos pueden dividirse en tres categorías: gravimétricos, colorimétricos y cromatográficos³³. Evidentemente la información que se

obtiene de ellos es diferente. Por ejemplo, entre los métodos gravimétricos se encuentran: el de **fibra cruda**, el cual determina de forma inexacta a la celulosa y lignina sin cuantificar el resto de los polisacáridos no celulósicos. El método de **fibra neutro detergente** determina principalmente los componentes estructurales de la pared celular, mientras que el método de **fibra ácido detergente** solamente a la lignina y a la celulosa, de modo que al efectuar ambos se calcula por diferencia la cantidad de hemicelulosa. A diferencia de los anteriores, los **métodos enzimáticos** logran determinar todas las fracciones de la fibra, constituyendo una manera más segura y práctica de informar el contenido total de un alimento³⁴.

La fibra dietaria en su conjunto tiene efectos fisiológicos especialmente estimables: Absorbe agua lo que aumenta el peso de las heces, las hace suaves y facilita la velocidad del tránsito intestinal al estimular el peristaltismo y la motricidad intestinal en general. Así mismo favorece procesos fermentativos de la flora intestinal que produce ácidos grasos volátiles, disminución del pH, flatulencia, así como aumento del peso de las heces. Ayuda a evitar una excesiva ingesta de alimentos al provocar una sensación de saciedad, mediante el aumento de volumen del contenido alimenticio que además induce una apreciable distensión gástrica^{17,34}.

Por su capacidad de intercambio de cationes, el consumo de fibra dietaria aumenta la excreción de algunos minerales de importancia nutricional. Debido a que absorbe compuestos orgánicos retiene el colesterol de la dieta, contribuyendo a una menor absorción del mismo y consecuentemente a una disminución en su nivel sanguíneo. Así también fija sales biliares y al ser éstas excretadas en las heces se fuerza su síntesis hepática a partir de colesterol, lo cual también ayuda a disminuir los niveles sanguíneos del mismo^{17,34}.

Las propiedades fisicoquímicas y la respuesta fisiológica a la ingestión de fibra dietaria han demostrado cierta relación benéfica con un número importante de enfermedades. Concretamente por su papel estimulador de la motilidad propulsiva del colon se ha empleado para el tratamiento dietético de algunas enfermedades como el estreñimiento. Debido al incremento del volumen fecal aumenta el diámetro del intestino grueso desfavoreciendo a la enfermedad diverticular. Contribuye al control de la obesidad, en función de su papel en la regulación de la ingesta de alimentos por el efecto de saciedad, aunado a la disminución de la absorción de nutrimentos generadores de energía así como cambios en niveles plasmáticos de glucosa e insulina. Reduce la incidencia de aterosclerosis al reducir los niveles plasmáticos de colesterol por su capacidad de unirse a algunos esteroides intestinales, entre ellos el colesterol y sales biliares aumentando su excreción fecal, además de disminuir la síntesis de lipoproteínas de baja densidad por modificación del metabolismo de lípidos debido a los ácidos propiónico y acético producidos durante la fermentación bacteriana de la fibra. Protege contra la presentación de diabetes y beneficia al paciente diabético al retrasar la absorción de glucosa, aumentar la sensibilidad a la insulina

por efecto metabólico de los ácidos grasos volátiles producidos durante la fermentación y al incrementar el número de receptores de insulina en los monocitos circulantes³⁴.

Por otra parte, existe evidencia epidemiológica que sugiere una relación inversa entre la ingesta de fibra dietaria y el riesgo de padecer cáncer de colon³⁷, y aunque la etiología multifuncional del cáncer ha generado una serie de inconsistencias en los estudios, se ha sugerido que los mecanismos posibles mediante los cuales la fibra dietaria contribuye a la reducción en la incidencia de dicha enfermedad incluyen: la reducción de la permanencia de los contenidos alimenticios en el intestino, limitando el tiempo de interacción de agentes carcinogénicos potenciales, así como la producción de ácidos grasos de cadena corta como resultado de la fermentación colónica de ciertos tipos de fibra lo que disminuye el pH del colon³⁴.

3.2.3 Selenio

El selenio es uno de los minerales traza indispensables para el organismo humano¹⁷, fue reconocido como tal desde 1957³⁸ y aunque recientemente se ha dado mucha importancia a su función antioxidante, anteriormente sus efectos mutagénico y carcinogénico habían sido más estudiados³⁹.

El intervalo entre el nivel seguro de ingesta y el nivel de toxicidad del selenio no ha sido determinado con exactitud, sin embargo se sabe que es estrecho. Por ejemplo, en Estados Unidos la Ingesta Diaria Recomendada (RDI) es de 70 y 55 $\mu\text{g}/\text{día}$ para hombres y mujeres, mientras que en el Reino Unido la Ingesta de Nutrientos de Referencia (RNI) corresponde a 75 y 60 $\mu\text{g}/\text{día}$, siendo considerado en este último país que para varones adultos la máxima ingesta segura es de 450 $\mu\text{g}/\text{día}$, y que por lo tanto ingestas de 750-900 $\mu\text{g}/\text{día}$ son tóxicas⁴⁰. De hecho existe evidencia de desajustes homeostáticos producidos por consumos superiores a los 750 $\mu\text{g}/\text{día}$ en una parte de la población China, y por otro lado ingestas inferiores a los 12 $\mu\text{g}/\text{día}$ han sido asociadas con la enfermedad de Keshan, cardiomiopatía fatal que afecta principalmente a niños pequeños y mujeres embarazadas³⁸.

A dosis tóxicas el selenio favorece el desarrollo del cáncer, sin embargo a dosis fisiológicas se ha establecido una correlación inversa entre el nivel de selenio en sangre y la mortalidad por dicha enfermedad, e incluso se ha demostrado *in vivo* que la administración de selenio inhibe el crecimiento de tumores, lo cual se ha sugerido que es resultado de la inhibición de la proliferación celular y la estimulación del sistema inmune. Por otra parte los síntomas generados por carencia de selenio son el adelgazamiento, distrofias musculares, trastornos cardiacos y artritis reumatoide³⁹.

También ha sido demostrado que un gran número de las funciones biológicas importantes del selenio dependen de la actividad de algunas proteínas en que se halla presente⁴⁰. La primera en ser identificada fue la enzima glutatión peroxidasa de la que forma parte como seleno cisteína, y cuya función es la descomposición del peróxido de hidrógeno que se produce durante las reacciones oxidativas de la

respiración, evitando de esta manera la oxidación de los lípidos de la membrana celular y con ello la destrucción de células musculares, pancreáticas, hepáticas y de glóbulos rojos³⁹.

Existen otras seleno proteínas cuyas funciones son importantes dentro del metabolismo de la glándula tiroides, la fertilidad masculina y la regulación redox de grupos disulfuro expuestos de enzimas y factores de transcripción. Además de éstas, existen otras 30 identificadas cuyas estructuras han sido al menos parcialmente deducidas⁴⁰.

3.3 GENERALIDADES SOBRE AJONJOLÍ

El ajonjolí, cuyo nombre científico es *Sesamum indicum* L. o *Sesamum orientale* L., es una de las 60 especies comprendidas dentro de la familia *Pedaliaceae*⁴¹. En distintos idiomas recibe nombres vulgares tales como sesame, gingelly, tahini y beniseed.

La planta es una hierba tropical anual que crece de 1 a 2 m, cuyo fruto es una vaina dehiscente compuesta por varias cápsulas, que a su vez están divididas por septos, hallándose en el interior de cada división entre 15 y 20 semillas⁴². Dado que su importancia industrial se debe principalmente al aceite extraído de su semilla, se le incluye dentro del grupo de las oleaginosas, no obstante desde tiempos remotos se le ha utilizado también como especia. De acuerdo con datos de la FAO⁴³, en el año 2001 la producción mundial de esta semilla fue de 3,160,778 ton a la cual México contribuyó con 41,000 ton. Los mayores productores fueron China, India, Myanmar y Sudán, siguiendo en importancia la producción de Uganda, Nigeria, Pakistán, Bangladesh, Etiopía y México.

La semilla de ajonjolí está compuesta por 45-63% de aceite, 19-31% de proteína y aprox. 14% de hidratos de carbono, la cáscara comprende alrededor del 17% de la semilla y está compuesta principalmente por fibra⁴². Al extraer el aceite se puede llegar a obtener una harina con hasta 60% de proteína⁴².

El aceite es uno de los pocos que pueden ser usados sin refinamiento, y su velocidad de oxidación es lenta comparada con la de otros aceites. Contiene 43% de ácido linoleico y 43% de ácido oleico⁴², siendo el primero uno de los dos ácidos grasos indispensables para el ser humano. Ambos poseen un efecto reductor sobre los niveles de colesterol total y de lipoproteínas de baja densidad, factores asociados con enfermedades cardiovasculares entre las que destaca la aterosclerosis, siendo mayor el efecto del ácido oleico. Este último además produce un ligero incremento en las proteínas de alta densidad, consideradas como antiaterogénicas¹⁷.

Su contenido en mono y oligosacáridos es: glucosa 3.2%, fructosa 2.6 %, sacarosa 0.2%, rafinosa 0.2%, estaquiosa 0.2%, y plantosa 0.6%⁴².

3.3.1 Composición proximal

Algunos autores han efectuado el análisis de la composición proximal de pastas residuales y harinas de ajonjolí producidas mediante distintos procesos, información que se muestra en la Tabla 4 y que en

algunos casos fue recalculada utilizando el factor 5.3 para obtener el contenido de proteína, con objeto de ser presentada de una manera más fácilmente comparable.

En dicha tabla resaltan las variaciones en la cantidad de cada componente presente en las diferentes harinas y una pasta residual. En el caso de la proteína se informaron contenidos desde 19.1% en harinas de semilla sometidas a poco o ningún procesamiento, hasta 49.6% en harina de semillas descascarilladas y cuyo aceite residual fue extraído con hexano, evidenciando con ello que el grado de extracción de aceite es el factor determinante para aumentar la concentración de proteína, no obstante influyendo también otros parámetros como la variedad o la especie utilizada, así como el que la extracción se lleve a cabo a escala industrial o a nivel laboratorio.

Evidentemente el contenido de extracto etéreo se ve inversamente influenciado por el mismo factor, reportándose desde 1.2 hasta 48.2%.

La determinación de humedad osciló entre 5.2 y 8.4%, correspondiendo el valor más bajo a la harina proveniente de una especie diferente de semilla.

Los intervalos del contenido de cenizas, fibra cruda y de hidratos de carbono fueron de 4.1-9.9%, 3.6-13.1% y 17.9-42.6% respectivamente en los cuales es posible que el grado de descascarillado influyera de manera importante, lo cual no se puede asegurar dado que no en todos los casos se describió la operación aplicada para ello.

Tabla 4. Composición proximal de pasta residual y harinas de ajonjolí obtenidas a partir de diferentes variedades y procesos.

Componente	Pasta residual comercial ^a	Harina comercial ^b	Harina de lab. var. Monagas aceitera ^c	Harina var. Monagas aceitera ^d	Harina de lab. var. negra ^e	Harina de lab. ^f	Harina de lab. ^g	Harina de lab. <i>Sesamum radiatum</i> ^h
Humedad	8.0	7.9	7.6	8.4	7.6	7.0	6.8	5.2
Proteína cruda (Nx5.30)	30.3	37.1	43.5	38.7	49.6	19.1	48.8	19.1
Extracto etéreo	2.0	1.2	5.2	1.7	1.3	48.2	10.9	44.3
Cenizas	5.0	7.8	6.5	9.9	6.9	5.2	7.0	4.1
Fibra cruda	12.1	8.3	7.9	13.1	6.5	3.6	5.8	7.9
Hidratos de carbono	42.6	37.7	29.3	28.2	28.1	17.9	20.7	19.0

^a Residuo del proceso de extracción mecánica de aceite (Fuente: Ref. 44)

^b Pasta residual, extraída con solventes (Fuente: Ref. 44)

^c Semilla descascarillada comercialmente y extraída con hexano en laboratorio (Fuente: Ref. 44)

^d Pasta residual, extraída con solventes (Fuente: Ref. 44)

^e Semilla descascarillada, extraída con hexano (Fuente: Ref. 45)

^f Semilla descascarillada en disolución salina (Fuente: Ref. 46)

^g Semilla descascarillada en disolución salina, extraída con hexano (Fuente: Ref. 46)

^h Semilla entera (Fuente: Ref. 47)

3.3.2 Propiedades funcionales

El estudio de la funcionalidad de la harina de ajonjolí ha sido limitado por lo que son escasas las publicaciones sobre este producto. Los resultados informados en ellas se muestran condensados en la Tabla 5, donde se observa una gran variabilidad debida no sólo a la utilización de harinas con una composición diferente sino a la aplicación de técnicas y condiciones distintas, lo que manifiesta la inexistencia de una estandarización universal para las metodologías utilizadas en la evaluación de propiedades funcionales así como de las condiciones bajo las cuales se realizan dichas determinaciones, hecho que dificulta la comparación objetiva de la funcionalidad de éstas y otras fuentes proteínicas.

Tabla 5. Propiedades funcionales de harinas de ajonjolí obtenidas a partir de diferentes variedades y procesos

Propiedad funcional	Harina de lab. ajonjolí sudanés ^a		Harina de lab. ^c	Harina de lab. ^d	Harina de lab. <i>Sesamum radiatum</i> ^e
Retención de aceite (%)	225		130	90	190
Retención de agua (%)	208		110	220	182
pH	3% s ^b	6.0	-	-	-
Capacidad de emulsificación (%)	5% s	55.2	130	110	63
	2.5% s	54.1			
Estabilidad de la emulsión (%)	5% s	79.5	-	-	26
	2.5% s	64.4			
Capacidad de espumado	3% s	446%	7.8 mL	11.0 mL	18%
Estabilidad de la espuma - 1h	73 %		7.2mL	7.6mL	-
Concentración mínima para gelificación (% w/v)	-		-	-	18

^a Semilla entera desgrasada (Fuente: Ref. 48)

^b s = harina en suspensión

^c Semilla descascarillada en disolución salina (Fuente: Ref. 46)

^d Semilla descascarillada en disolución salina, extraída con hexano (Fuente: Ref. 46)

^e Semilla entera (Fuente: Ref. 47)

3.3.3 Valor nutricional

En una revisión hecha sobre las características de fuentes proteínicas de productos alimenticios asiáticos⁴⁹ se afirmó que la composición nutrimental del ajonjolí se compara favorablemente con la de la soya, dependiendo sin embargo de la variedad usada, así como del grado de decorticación y del proceso al que se someta, ya que la cáscara comprende de un 15 a un 29% de la semilla entera y al ser removida se reduce el 50% de la fibra y se aumenta tanto el contenido proteínico como su digestibilidad y palatabilidad.

La contribución de aminoácidos tanto de la pasta residual como de la harina, ha sido discutida por varios autores^{44,48,49,50}. Se reconoce que son buena fuente de metionina, cisteína y triptofano, aunque ligeramente bajas en lisina e isoleucina por lo que puede complementarse con otras oleaginosas y leguminosas.

Con respecto a la calidad proteínica de la harina de ajonjolí, el resultado de una evaluación hecha en mezclas con diferentes proporciones de harina de ajonjolí y de soya, informó un valor de PER de 1.4

obtenido con harina de ajonjolí sola, el cual se incrementó hasta cerca de 2.5 en una mezcla 1:1 con harina de soya⁴⁴. Por otro lado la Cuenta Química informada para el ajonjolí es de 53 %, siendo lisina el aminoácido limitante⁵⁰.

Algunos autores han determinado la presencia de selenio en harinas de distintas variedades de ajonjolí, cuyo contenido fluctúa entre 1.3 y 11.9 ppm ^{44,45}. Se sabe que se proviene principalmente de la cáscara, y que su nivel es alto cuando la planta se cultiva en suelos ricos en selenio⁴².

Los factores antinutricionales que se han encontrado en el ajonjolí son el ácido oxálico y el ácido fítico, los cuales interfieren con el metabolismo principalmente de calcio y zinc⁵⁰, aunque se ha señalado también que el ácido oxálico es removido durante el descascarillado de la semilla, por lo que su contenido en la pasta residual es de 2-3% y en la harina varía entre 0.038-0.36%, mientras que el ácido fítico, cuyo contenido en la semilla es de 5% , no es eliminado durante dicho proceso ^{42,45,48,49, 50}.

4 JUSTIFICACIÓN

Con base en los antecedentes planteados, que muestran evidencias de un valor funcional y nutricional sobresaliente de la harina de ajonjolí, se justifica el interés de evaluarla con mayor detalle. Esto permitirá obtener la información necesaria para proponer su aplicación como materia prima en alimentos para consumo humano. Al enfocar el estudio hacia la obtención de productos para la alimentación humana, se contribuirá en la búsqueda de fuentes alternativas de alimento de buena calidad nutricional, que como ya se comentó, se realiza sobre todo en países en vías de desarrollo.

Es importante considerar también la disponibilidad que existe de este subproducto agroindustrial en nuestro país. En este proyecto se está colaborando con una de las principales empresas nacionales que procesan ajonjolí, Distribuidora Internacional de Productos Agrícolas S.A. de C.V, cuyo volumen de producción anual de harina de ajonjolí es de aproximadamente 850 toneladas.

Por lo anteriormente expuesto, es importante encontrar una aplicación de la harina de ajonjolí en la producción de insumos de mayor valor agregado dirigidos al consumo humano. Con tal finalidad se definieron, para la presente investigación, los siguientes objetivos:

5 OBJETIVO

Caracterizar a la harina de ajonjolí de manera que se evidencie su potencial como materia prima para el desarrollo de productos alimenticios de alta calidad funcional y nutricional destinados al consumo humano.

5.1 Objetivos particulares

Evaluar la harina de ajonjolí en términos de composición, calidad microbiológica, factores antinutricionales y metales pesados.

Realizar la caracterización nutricional de esta materia prima para demostrar su aplicabilidad en productos para consumo humano, comparando distintos métodos de evaluación de calidad proteínica y determinando cuál proporciona resultados más representativos de acuerdo con los requerimientos humanos.

Caracterizar la harina de ajonjolí en cuanto a sus propiedades funcionales para proponer su aplicación en un producto alimenticio.

6 METODOLOGÍA

6.1 ESTRATEGIA EXPERIMENTAL

La estrategia experimental llevada a cabo para cumplir con los objetivos planteados, partiendo de la recepción de la harina de ajonjolí y concluyendo con la propuesta de aplicación, se dividió en cinco etapas que consistieron en las evaluaciones física y química, microbiológica, bromatológica, funcional y nutricional, tal y como se muestran en la Figura 2.

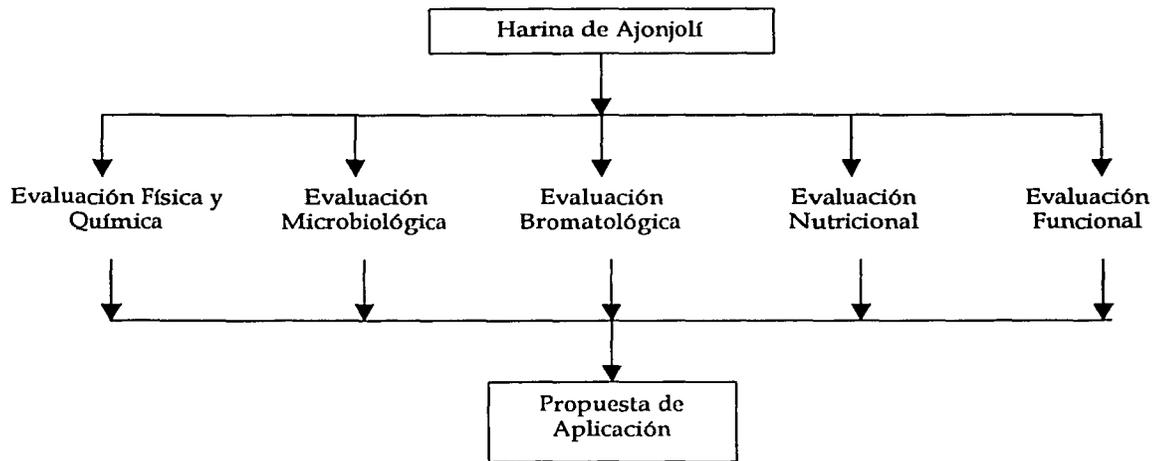


Figura 2. Estrategia experimental desarrollada para efectuar la caracterización de harina de ajonjolí y proponer una propuesta de aplicación

6.2 MATERIALES Y MÉTODOS

6.2.1 Muestra

La harina de ajonjolí empleada se obtuvo como una donación de la empresa Distribuidora Internacional de Productos Agrícolas S. A. de C. V. (Cortazar, Gto.). Fue producida a partir de semillas de ajonjolí descascarilladas por fricción tras su remojo, molidas después de la extracción mecánica del aceite y sometidas a una segunda extracción de los lípidos con hexano. Desde su recepción fue mantenida en refrigeración a 4°C en un recipiente hermético, protegido de la luz.

6.2.2 Evaluación Física y Química

6.2.2.1 Granulometría

Para determinar la distribución de tamaño de partícula se pesaron 50g de harina y se hicieron pasar consecutivamente a través de 11 tamices (WS Tyler Standard Testing Sieve ASTM E 11, tamaños de malla de 600, 425, 300, 250, 180, 150, 125, 106, 75, 63 y 38 μm). Las fracciones retenidas se pesaron en una balanza digital (Sartorius 1209MP) y los pesos de cada una se expresaron como porcentaje con respecto al peso inicial de la muestra. Por los resultados obtenidos todas las determinaciones del presente trabajo fueron hechas con la harina tamizada por malla 40 (425 μm).

6.2.2.2 pH

Para determinar el pH se preparó una suspensión de harina al 10% en agua destilada ajustada a pH 7, la cual fue agitada a temperatura ambiente durante 60 min a 120 rpm en un agitador orbital (Lab Line), efectuando la medición de pH con un potenciómetro (Corning pH meter 340) manteniendo la suspensión en agitación magnética.

6.2.3 Evaluación Microbiológica

La muestra de harina se preparó para la cuantificación de los tres grupos de microorganismos indicadores como se describe a continuación: se pesó una muestra representativa tomada de forma aleatoria de harina de ajonjolí para preparar una suspensión al 10% en agua peptonada al 0.1%, a partir de la cual se realizaron diluciones decimales de acuerdo al método descrito por Wachter⁵¹. Estas diluciones se utilizaron para efectuar las siguientes determinaciones.

6.2.3.1 Cuantificación de Mesófilos Aerobios

Para la cuantificación de Mesófilos Aerobios se utilizó la técnica de extensión superficial, inoculando 0.1 mL de cada dilución sobre placas con Agar Cuenta en Placa (ACP), que fueron incubadas a 30°C efectuando los recuentos a las 24 y 48 horas, de acuerdo al método descrito por Wachter⁵¹.

6.2.3.2 Cuantificación de Coliformes Totales

Para la cuantificación de Coliformes Totales se utilizó el método del Número Más Probable (NMP), inoculando como prueba presuntiva 1 mL de cada dilución por triplicado en tubos con 9 mL de Caldo Lauril Sulfato Triptosa (CLST) y una campana de Durham, que fueron incubados a 37°C durante 24 y 48 horas. Como prueba confirmativa, de cada tubo que presentó producción de gas durante la prueba presuntiva, se transfirió 1 mL por triplicado a tubos con 9 mL de Caldo Bilis Verde Brillante (CBVB) con campana de Durham. Éstos se incubaron a 37°C durante 24 y 48 horas, al término de las cuales se confirmó la presencia de Coliformes Totales sólo en aquellos tubos que presentaron formación de gas, de

acuerdo al método descrito por Wachter⁵¹. Para el cálculo del NMP se utilizó la tabla para tres diluciones decimales y tres tubos inoculados a partir de cada una⁵².

6.2.3.3 Cuantificación de Hongos y Levaduras

Para la cuantificación de hongos y levaduras se utilizó la técnica de extensión superficial, inoculando 0.1 mL de cada dilución sobre placas con Agar Papa Dextrosa (PDA) acidificado (con ácido tartárico al 0.14%), que fueron incubadas a temperatura ambiente efectuando los recuentos a los 4 y 7 días, de acuerdo al método descrito por Wachter⁵¹.

6.2.4 Evaluación Bromatológica

6.2.4.1 Análisis Proximal

Las determinaciones de humedad, cenizas, extracto etéreo, proteína y fibra cruda fueron llevadas a cabo por el Laboratorio de Alimentos del Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición, Salvador Zubirán, utilizando los métodos 925.09, 923.03, 962.09, 920.39, 977.14 y 963.15 del AOAC, 1999, 16^a ed. 5^a revisión.

6.2.4.2 Determinación de Fibra Dietaria

Las determinaciones de fibra dietaria soluble y fibra dietaria insoluble fueron llevadas a cabo por American Quality Lab, utilizando los métodos 991.42-985.29 del AOAC, 2000, 17^a ed.

6.2.5 Evaluación Nutricional

6.2.5.1 Relación de la Eficiencia de la Proteína (PER)

La determinación del valor de PER de la harina de ajonjolí (irradiada a 8 kGy) y de caseína se llevó a cabo de acuerdo con el método 960.48 del AOAC²². Consistió en alimentar a ratas (Sprague-Dawley, machos, recién destetados, de < 28 días, libres de patógenos, provenientes de la misma colonia) distribuidas por peso en lotes de 6 ratas por cada fuente proteínica a evaluar de modo que los pesos promedio de todos los lotes difirieran < 5g entre sí con dietas preparadas lo más asépticamente posible. Composición final de las dietas (ver formulaciones en el ANEXO II): 1.6 % nitrógeno, 8% lípidos (completando los de la fuente proteínica con aceite de maíz), 1% mezcla vitaminas (AOAC, de Harlan Teklad), 5% sales (completando las de la fuente proteínica con USP XVII, de Harlan Teklad), 1% fibra (completando la de la fuente proteínica con celulosa, de Harlan Teklad), 5% humedad, completando el 100% con almidón (mezcla 1:1 de maizena y almidón Globe AA, de Arancia Corn Products).

Cada rata se mantuvo en una jaula individual de piso de rejilla, colocando papel manila debajo para recoger la comida derramada. Se administró agua acidificada y dieta *ad libitum*, esta última en comederos de acero inoxidable. Se determinó el consumo neto de alimento y el peso de cada rata tres veces por

semana y por último el día 28. A las dietas se les determinó nitrógeno por el método 960.52 del AOAC²². La Relación de la Eficiencia de la Proteína (PER) se calculó mediante la siguiente expresión:

$$PER = \frac{\Delta P}{A \cdot N \cdot F} \times 100,$$

donde:

ΔP = ganancia en peso (g) por rata del día cero al 28

A = alimento consumido (g) durante los 28 días

N = contenido de nitrógeno de la dieta (%)

F = factor de conversión de nitrógeno a proteína propio de cada fuente proteínica

Adicionalmente se calculó el valor de PER Relativo (R-PER) de la harina de ajonjolí expresando el PER de la harina como porcentaje con respecto al de la caseína, según la fórmula siguiente:

$$R\text{-PER} = \frac{PER \text{ exp}_h}{PER \text{ exp}_c} \times 100, \quad [\%]$$

donde:

PER exp_h = valor de PER obtenido experimentalmente para la harina de ajonjolí

PER exp_c = valor de PER obtenido experimentalmente para la caseína

6.2.5.2 Relación Neta de la Proteína (NPR)

Para calcular los valores de NPR de la harina de ajonjolí (irradiada a 8 kGy) y de caseína se utilizaron los datos registrados hasta el día 14 de las ratas del bioensayo realizado para determinar PER, pero incluyendo un lote de ratas adicional al cual se le administró una dieta libre de nitrógeno (ver formulación en el ANEXO II) según las recomendaciones hechas por Happich *et al*²⁴.

La Relación Neta de la Proteína (NPR) se calculó mediante la siguiente expresión:

$$NPR = \frac{\Delta P - \overline{\Delta P_m}}{A \cdot N \cdot F} \times 100,$$

donde:

ΔP = ganancia en peso (g) por rata del día cero al 14

$\overline{\Delta P_m}$ = pérdida de peso promedio de las ratas alimentadas con dieta libre de nitrógeno del día cero al 14 (g)

A = alimento consumido (g) durante los 14 días

N = contenido de nitrógeno de la dieta (%)

F = factor de conversión de nitrógeno a proteína propio de cada fuente proteínica.

Adicionalmente se calculó el valor de NPR Relativo (R-NPR) de la harina de ajonjolí expresando el valor NPR de la harina como porcentaje con respecto al de la caseína como se indica a continuación:

$$R-NPR = \frac{NPR \text{ exp}_h}{NPR \text{ exp}_c} \times 100 \quad [\%],$$

donde:

$NPR \text{ exp}_h$ = valor de NPR obtenido experimentalmente para la harina de ajonjolí

$NPR \text{ exp}_c$ = valor de NPR obtenido experimentalmente para la caseína

6.2.5.3 Digestibilidad Verdadera (DV)

La determinación de DV de la harina de ajonjolí (irradiada a 8 kGy) y de caseína se llevó a cabo de acuerdo con el método 991.29 del AOAC²⁸. Consistió en alimentar a ratas (Sprague-Dawley, machos, recién destetados, de 62.4-74.3 g, libres de patógenos, provenientes de la misma colonia) distribuidas por peso en lotes de 6 ratas por cada fuente proteínica a evaluar y un lote metabólico (al cual se le administró una dieta libre de nitrógeno), con dietas preparadas lo más asépticamente posible. Composición final de las dietas (ver formulaciones en el ANEXO II): 1.6% nitrógeno, 10% lípidos (completando los de la fuente proteínica con aceite de maíz), 2% mezcla vitaminas (AOAC, de Harlan Teklad), 3.5% mezcla de minerales (AIN-76, de Harlan Teklad), 5% fibra (completando la de la fuente proteínica con celulosa, de Harlan Teklad), completando el 100% con almidón (mezcla 1:1 de maizena y almidón Globe AA, de Arancia Corn Products).

Cada rata se mantuvo en una jaula individual de piso de rejilla, colocando papel manila debajo para coleccionar las heces y la comida derramada. Se administró 15 g/día de dieta en comederos de acero inoxidable y agua acidificada *ad libitum*, durante 4 días del periodo preliminar y 5 del periodo de balance, y durante éstos últimos se determinó diariamente la comida consumida, se separaron y se recolectaron las heces y comida derramada en recipientes abiertos. Al terminar el periodo de balance los frascos de comida derramada se dejaron abiertos a temperatura ambiente durante 3 días al término de los cuales se determinó el peso de la comida desperdiciada. Las heces se secaron en una estufa a 65°C durante 2 días, posteriormente se pesaron, se molieron manualmente y se les determinó nitrógeno por el método 960.52 del AOAC²². La Digestibilidad Verdadera (DV) se calculó mediante la siguiente expresión:

$$DV = \left[\frac{N_i - (N_f - N_m)}{N_i} \right] \times 100 \quad [\%],$$

donde:

N_i = nitrógeno ingerido (g) por rata alimentada con dieta de prueba. $N_i = N \cdot A_n$ (N = contenido de nitrógeno de la dieta [%], A_n = peso del consumo neto de alimento durante los días de balance [g])

N_f = nitrógeno fecal (g) de rata alimentada con dieta de prueba. $N_f = N_h \cdot H$ (N_h = contenido de nitrógeno de las heces [%], H = peso de las heces durante el periodo de balance [g])

N_m = nitrógeno fecal (g) de rata alimentada con dieta libre de nitrógeno. $N_m = N_h \cdot H$ (N_h = contenido de nitrógeno de las heces [%], H = peso de las heces durante el periodo de balance [g])

La Digestibilidad Aparente (DA) se calculó como una simplificación de la anterior, de acuerdo con la siguiente expresión: $DA = \left[\frac{N_i - N_f}{N_i} \right] \times 100$ [%]

6.2.5.4 Cuenta Química (CQ)

La determinación del perfil de aminoácidos de la harina de ajonjolí se efectuó por el Laboratorio Silliker, Inc., utilizando como referencia el método USDA 6.011 (1986). La Cuenta Química se realizó como se indicó en la revisión hecha por Sarwar y McDonough¹⁹. Se calculó para cada aminoácido indispensable la relación con respecto a la cantidad presente del mismo en la proteína de referencia, usando el patrón general sugerido por la FAO/WHO/UNU² (ver sección 3.2.1.1). De tal forma que el aminoácido más limitante, es decir el que presentó la menor relación según el cálculo que se muestra a continuación, determinó el valor de la Cuenta Química (CQ):

$$CQ = \frac{aa_a}{aa_p} \times 100 \quad [\%],$$

donde:

aa_a = cantidad de aminoácido indispensable en ajonjolí ($mg_{aa}/g_{proteína}$)

aa_p = cantidad de aminoácido indispensable en patrón de referencia ($mg_{aa}/g_{proteína}$)

Para el cálculo de la Cuenta Química corregida con Digestibilidad (CQ x DV, [%]), se realizó el producto de la Digestibilidad Verdadera por la Cuenta Química (expresada como fracción)

6.2.5.5 Digestibilidad *in vitro* (Di)

La Digestibilidad *in vitro* de dos muestras de harina de ajonjolí (no irradiada e irradiada a 8 kGy) y de caseína (Harlan Teklad) se determinó mediante el método multienzimático desarrollado por Hsu *et al.*⁵³ Se inició con el molido manual de una muestra de harina de ajonjolí, tras lo cual se solubilizaron ésta y la muestra de caseína preparando las suspensiones necesarias para determinar la capacidad amortiguadora de cada una y su digestibilidad, pesando cantidades adecuadas para obtener un nivel de proteína de 6.25 mg/mL para 25 mL de volumen final, utilizando inicialmente 20 mL de agua desionizada caliente (40°C) y previamente ajustada a pH 11. Todos los ajustes y mediciones de pH tanto de la solubilización como de

la determinación de la capacidad amortiguadora y de la Digestibilidad *in vitro* se realizaron a 37°C utilizando HCl 0.1N (Sigma) o NaOH 0.1N (Sigma), un potenciómetro (Corning pH meter 340) calibrado a 37°C, y agitación magnética. Las suspensiones se incubaron a 37°C y 100 rpm por 30 min dentro de un agitador orbital (Rosi 1000 Thermolyne). Cada una se ajustó a pH 8 y se llevó a 25mL, y la solubilización se detuvo reduciendo la temperatura a 4°C. La determinación de la capacidad amortiguadora se efectuó llevando las suspensiones correspondientes a 37°C con el electrodo inmerso en ellas y tras ajustar a pH 8 se inició la adición de pequeñas porciones de HCl 0.0115 N usando una bureta y alternando con lecturas de pH cada minuto hasta alcanzar pH 6.45 dentro de un periodo de 10 min. La determinación de la digestibilidad *in vitro* se efectuó llevando cada una de las suspensiones correspondientes a 37°C con el electrodo inmerso y tras ajustar a pH 8 se inoculó 500 µL de mezcla enzimática (3.64 mg/mL de tripsina pancreática porcina tipo IX con 15900 BAEE U/mg_{prot.} y 98% de pureza marca Sigma, 12.57 mg/mL de quimotripsina pancreática bovina tipo II con 37 U/mg_{polvo} marca Sigma y 1.28 mg/mL de peptidasa intestinal porcina grado III con 102 U/g_{polvo} marca Sigma) previamente preparado, ajustado a pH 8 y mantenido en baño de hielo. El pH se siguió, leyendo a los 24, 45 y 60 segundos y después cada minuto por un periodo total de 10 min. La capacidad amortiguadora se expresó como el volumen (mL) de HCl 0.0115 N gastado y la Digestibilidad *in vitro* (Di) se calculó mediante la siguiente expresión:

$$D_i = 210.46 - (18.1)(pH_{10}) \quad [\%],$$

donde:

pH₁₀ = pH determinado transcurridos 10 min de la inoculación enzimática

6.2.5.6 Determinación de Selenio

La digestión de la muestra así como la determinación de selenio mediante absorción atómica por generador de hidruros, fueron llevadas a cabo por el Laboratorio de Análisis Físicos y Químicos del Ambiente del Instituto de Geografía de la UNAM, utilizando los métodos 3050 y 7742 de la EPA para la digestión y la determinación, respectivamente.

6.2.5.7 Determinación de Factores Antinutricionales

Las determinaciones de ácido fítico y ácido oxálico fueron llevadas a cabo por el Departamento de Control Analítico de la Facultad de Química de la UNAM, utilizando el método de Hang & Lantsch, y el método XI del Vogel's Textbook of Quantitative Inorganic Analysis, 4ª ed., respectivamente.

6.2.5.8 Determinación de Metales Pesados

La digestión de la muestra así como las determinaciones de plomo y cadmio mediante absorción atómica por horno de grafito, fueron llevadas a cabo por el Laboratorio de Análisis Físicos y Químicos del Ambiente del Instituto de Geografía de la UNAM, utilizando para la digestión el método 3050 de la EPA y para las determinaciones el método de Varian, 1988.

6.2.6 Evaluación Funcional

6.2.6.1 Solubilidad

El perfil de Solubilidad fue determinado dentro del intervalo de pH 1 a pH 11. Para cada punto se preparó una suspensión agregando una cantidad de harina de ajonjolí tal que el nivel de proteína fuera 1% (p/v) para un volumen final de 30 mL en cada caso, utilizando inicialmente 25 mL de agua caliente (40°C) y previamente acidificada a una unidad anterior que la deseada en el caso de valores de pH ácidos, alcalinizada a una unidad posterior para valores de pH alcalinos o neutralizada para pH 7. Todos los ajustes de pH se realizaron utilizando disoluciones de aproximadamente 0.25 M y 5 M de HCl o NaOH, un potenciómetro (Corning pH meter 340) y bajo agitación magnética. Las suspensiones se incubaron a 37°C y 120 rpm por 30 min dentro de un agitador orbital (Rosi 1000 Thermolyne). Cada una se llevó a 30 mL, el pH se ajustó al valor final deseado y se introdujo a la incubadora bajo las mismas condiciones. Se repitió en dos ocasiones más la secuencia de ajuste de pH e incubación completando así un tiempo de incubación de 120 min. La solubilización se detuvo reduciendo la temperatura de las suspensiones a 4°C. Posteriormente se les centrifugó a 4°C (12000 Xg, 30 min) en una centrifuga Beckman J2-MC recuperando el sobrenadante al cual se le determinó la cantidad de proteína mediante el método de Lowry *et al.* - modificado⁵⁴ (ver ANEXO I). La solubilización se calculó como el porcentaje de proteína solubilizada en relación a la proteína inicialmente suspendida según la siguiente ecuación, y se trazó el perfil de solubilidad en función del pH.

$$\text{Solubilización} = \frac{[p] D}{100} \quad [\%],$$

donde:

$[p]$ = concentración ($\mu\text{g}/\text{mL}$) de proteína soluble diluida. $[p] = \frac{\text{Abs}_{750} - b}{m}$ (Abs_{750} = absorbancia a 750 nm del sobrenadante diluido; b = ordenada al origen, en este caso 0.03; m = pendiente, en este caso 0.0054 mL/ μg , estas últimas obtenidas de la regresión lineal de la curva patrón)

D = factor de dilución del sobrenadante (mL)

6.2.6.2 Capacidad de Retención de Agua

La capacidad de retención de agua se midió de acuerdo con el método de Quinn y Paton¹⁰, se adicionaron muestras de 3 g de harina en volúmenes conocidos de agua destilada dentro de tubos para centrifuga, se mezclaron con una espátula hasta hacer una pasta y se sometieron a centrifugación (2000 Xg, 10 min) a temperatura ambiente en una centrifuga Beckman J2-MC buscando el volumen de agua que no produjera sinéresis y el inmediato siguiente que sí lo hiciera. La capacidad de retención de agua se expresó como el

promedio del intervalo cuyos límites se calcularon como el porcentaje del volumen de agua retenida con respecto al peso de muestra agregado en ambos tubos según la siguiente ecuación:

$$\text{Límite} = \frac{V_{ag}}{m_h} \times 100 \quad [\%],$$

donde:

V_{ag} = volumen de agua añadido (mL)

m_h = peso de harina de ajonjolí (en este caso 3g)

6.2.6.3 Humectabilidad

La humectabilidad se evaluó según el método propuesto por Balmaceda, *et al.*¹² adicionando a través de un tamiz una muestra de 1 g de harina sobre un volumen de 80 mL de agua destilada evaluando su comportamiento al hacer contacto de acuerdo a los parámetros sugeridos (ver Tabla 2 y sección 3.1.1.3). Tras media hora de reposo se valoró el estado del sistema y posteriormente fue agitado magnéticamente durante 1 min formando un vortex que alcanzó el fondo del vaso de precipitados completando la evaluación de la humectabilidad como excelente, buena, escasa o pobre.

6.2.6.4 Capacidad de Retención de Aceite

El procedimiento utilizado para evaluar la capacidad de retención de aceite se basó en el método usado por Lin y Humbert⁵⁵ adicionando muestras de 3 g de harina sobre volúmenes conocidos de aceite de maíz dentro de tubos para centrífuga, mezclando cada uno con una espátula hasta hacer una pasta, sometiéndolas a centrifugación (2000 Xg, 10 min) a temperatura ambiente en una centrífuga Beckman J2-MC buscando el volumen de aceite que no produjera una separación de fases y el inmediato siguiente que sí lo hiciera. La capacidad de retención de aceite se expresó como el promedio del intervalo cuyos límites se calcularon como el porcentaje del volumen de aceite retenido con respecto al peso de muestra agregado en ambos tubos según la siguiente ecuación:

$$\text{Límite} = \frac{V_{ac}}{m_h} \times 100 \quad [\%],$$

donde:

V_{ac} = volumen de aceite añadido (mL)

m_h = peso de harina de ajonjolí (en este caso 3g)

6.2.6.5 Propiedades de Emulsificación

Para efectuar la determinación simultánea del Índice de Actividad Emulsificante (IAE) y de la estabilidad de la emulsión, fue necesario producir previamente las emulsiones de la siguiente manera: se prepararon suspensiones de harina de ajonjolí en disoluciones amortiguadoras 0.1M, de acetatos a pH 4 y de fosfatos

a pH 7, a niveles de proteína de 0.1, 0.5, 1.0, 3.0 y 5.0 % (p/v) para un volumen final de 75 mL en cada caso, utilizando inicialmente 53 mL de disolución amortiguadora caliente (40°C). Las suspensiones se incubaron a 37°C y 120 rpm por 30 min dentro de un agitador orbital (Rosi 1000 Thermolyne). Según el caso cada una se ajustó a pH 4 ó pH 7 utilizando disoluciones 0.1 M de K₂HPO₄ o CH₃COOH, un potenciómetro (Corning pH meter 340), y agitación magnética. La secuencia de incubación y ajuste de pH se repitió una vez más completando así un tiempo de incubación de 60 min, al término del cual cada suspensión se llevó a 75 mL. Las suspensiones se enfriaron a temperatura ambiente y se añadió a cada una un volumen de 25 mL de aceite de maíz. Para preparar las emulsiones se utilizó un homogenizador (Janke & Kunkel Ultra-Turrax T25) a 20500 rpm durante 2 min.

6.2.6.5.1 Índice de Actividad Emulsificante (IAE)

Partiendo de cada emulsión preparada como se indicó en la sección precedente, se siguió el procedimiento descrito por Pearce y Kinsella⁵⁶ para determinar el IAE. Se tomó una alícuota de 200 µL que se añadió a un volumen de 49.8 mL de disolución SDS 0.1%-NaCl 0.1M. La densidad óptica (d) de esta dispersión se determinó a 500 nm en un espectrofotómetro (Perkin Elmer, LambdaBio).

El Índice de Actividad Emulsificante (IAE) se calculó mediante la siguiente expresión:

$$IAE = \frac{2 \cdot T \cdot D}{\Phi \cdot C} \quad [m^2/g],$$

donde:

T = turbiedad (en m⁻¹) = $\frac{(2.303) d_{500}}{l}$ (d_{500} = densidad óptica a 500 nm, l = longitud de la celda, en este caso 0.01m).

D = factor de dilución de la emulsión en la disolución de SDS-NaCl (en este caso 250)

Φ = fracción volumétrica de la fase dispersa en la emulsión (en este caso 0.25)

C = concentración de la suspensión proteínica (g/m³)

6.2.6.5.2 Estabilidad de la Emulsión

Partiendo de cada emulsión preparada como se describió en la sección 6.2.6.5 se procedió mediante la técnica descrita por Dagorn-Scaviner *et al*⁵⁷. Se vertieron alícuotas de 12 mL de emulsión en tubos cónicos graduados que se centrifugaron en una centrífuga clínica (Solbat C300) a 3000 rpm y temperatura ambiente por 10 min. La estabilidad de la emulsión se calculó como el porcentaje del aceite coalescido con respecto al volumen de aceite emulsionado considerado como la cuarta parte del volumen total de líquido en cada tubo, como se muestra en la siguiente expresión:

$$\text{Aceite coalescido} = \frac{V_c}{(0.25) V_t} \quad [\%],$$

donde:

V_c = volumen de aceite coalescido (mL)

V_t = volumen total de líquido en cada tubo (mL)

6.2.6.6 Propiedades de Espumado

Para llevar a cabo la determinación simultánea de la capacidad de espumado y de la estabilidad de la espuma, fue necesario producir previamente las espumas como se indica a continuación: se prepararon suspensiones de harina de ajonjolí en disoluciones amortiguadoras 0.1M, de acetatos a pH 4 y de fosfatos a pH 7, a niveles de proteína de 0.1, 0.5, 1.0 y 5.0 % (p/v) para un volumen final de 50 mL en cada caso, utilizando inicialmente 45 mL de disolución amortiguadora caliente (40°C). Las suspensiones se incubaron a 37°C y 120 rpm por 30 min dentro de un agitador orbital (Rosi 1000 Thermolyne). Según el caso cada una se ajustó a pH 4 ó pH 7 utilizando disoluciones 0.1 M de K_2HPO_4 o CH_3COOH , un potenciómetro (Corning pH meter 340), y bajo agitación magnética. La secuencia de incubación y ajuste de pH se repitió una vez más completando así un tiempo de incubación de 60 min al término del cual cada suspensión se llevó a 50 mL. Para preparar las espumas se utilizó un homogenizador (Tekmar Tissumizer) a 20500 rpm durante 2 min.

6.2.6.6.1 Capacidad de Espumado

Se determinó inmediatamente después de completar el tiempo de espumado. Se vertió la espuma recién formada en una probeta y se registró el volumen total del sistema alcanzado en ese instante. La capacidad de espumado se expresó utilizando el término incremento de volumen (IV), sugerido por Lawhon *et al*⁵⁸, según el cálculo que se muestra a continuación:

$$IV = \frac{V_S - V_P}{V_P} \times 100 \quad [\%]$$

donde:

V_S = volumen total del sistema al verter en probeta (mL)

V_P = volumen de la suspensión proteínica (mL)

6.2.6.6.2 Estabilidad de la Espuma

La estabilidad de la espuma se monitoreó con el mismo sistema usado en la determinación de la capacidad de espumado. Se registró el volumen total del sistema una vez vertida la espuma en la probeta y al transcurrir 1, 10, 30, 60 y 120 min como se describió por Lin y Humbert⁵⁵. La estabilidad de la espuma se representó en forma gráfica como el volumen total del sistema en función del tiempo transcurrido desde la obtención de la espuma.

7 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1 EVALUACIÓN FÍSICA Y QUÍMICA

7.1.1 Granulometría

Se pesaron 50g de harina de ajonjolí haciéndose pasar consecutivamente a través de 11 tamices, registrando el peso de las fracciones retenidas en cada uno. En la Figura 3 y Tabla 6 se presenta la distribución de tamaño de partícula correspondiente. Se observó una gran dispersión, no obstante el 54.59% de la harina tiene un tamaño menor a 180 μ m. Se determinó además que la porción retenida por mallas 30 y 40 (>425 μ m), que consta de fragmentos de cascarilla remanente, constituyó 4.18% del total. Dados los indicios de la presencia de ácido oxálico en la cascarilla (ver sección 3.3.3) se decidió retirar esas fracciones de la harina para continuar con la caracterización y se favoreció así, no sólo una menor heterogeneidad en el tamaño de partícula sino además la reducción del mencionado factor antinutricional.

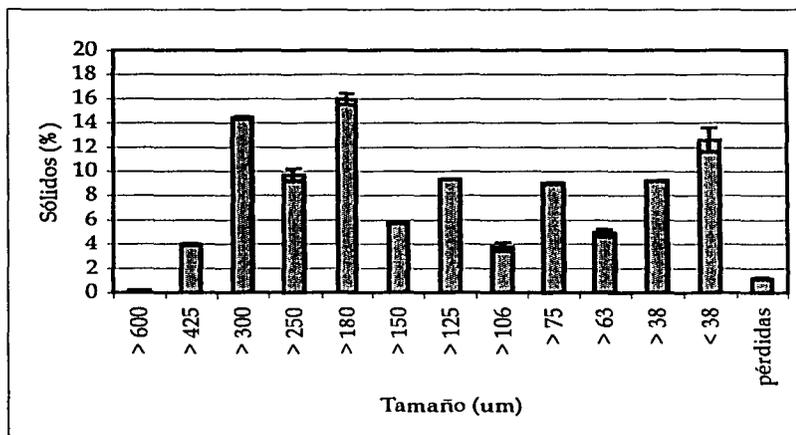


Figura 3. Distribución de tamaño de partícula de la harina de ajonjolí. Determinación realizada por duplicado.

Tabla 6. Distribución de tamaño de partícula de la harina de ajonjolí

No. malla	Tamaño (µm)	Sólidos (%)	s
30	> 600	0.21	0.01
40	> 425	3.97	0.10
50	> 300	14.42	0.11
60	> 250	9.71	0.49
80	> 180	15.95	0.47
100	> 150	5.76	0.06
120	> 125	9.34	0.03
140	> 106	3.75	0.33
200	> 75	9.02	0.06
250	> 63	4.92	0.31
400	> 38	9.22	0.03
	< 38	12.58	0.99
Total recuperado		98.85	0.07
Pérdidas		1.15	0.07

Determinación realizada por duplicado.

7.1.2 pH

El pH se determinó potenciométricamente por triplicado en suspensiones de harina al 10% en agua destilada ajustada a pH 7. Las suspensiones de harina se mantuvieron en agitación a 120 rpm y temperatura ambiente durante 60 min previos a las mediciones. Se obtuvo un valor promedio de:

6.39 ± 0.01.

Este resultado es aproximado al de 6.0 obtenido en una suspensión de harina al 3% informado por otros autores⁴⁸. Dado que es un pH cercano a la neutralidad, indica que la harina no fue anteriormente sometida a ningún tratamiento alcalino asegurando además que este material no acidificaría significativamente el producto en el que se le adicionara como ingrediente.

7.2 EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA

En la Tabla 7 se presenta el resultado de la evaluación microbiológica de la harina de ajonjolí, así como los límites máximos de los tres grupos de microorganismos indicadores especificados en la NOM-147-SSA1-1996⁵⁹ para harinas de distintos cereales, que se utilizarán como referencia para la harina de ajonjolí debido a que no existe una norma para este producto en México. Con respecto a los **Mesófilos Aerobios**, determinados por la técnica de extensión en superficie sobre Agar Cuenta en Placa, se estimó una cuenta promedio de 65000 UFC/g, observando que aunque sobrepasó los límites establecidos para las harinas de trigo, maíz nixtamalizado y avena, se situó por debajo de las especificaciones del resto de las harinas, lo que indicó la instrumentación de buenas prácticas de manufactura. La cuenta de **Coliformes Totales** determinados mediante la técnica de NMP al realizar tres diluciones decimales del inóculo en Caldo

Lauril Sulfato Triptosa y confirmando en Caldo Bilis Verde Brillante, fue en promedio de 6 NMP/g, resultado inferior a los límites máximos establecidos, lo que señaló la aplicación de prácticas higiénicas en el proceso de obtención de la harina de ajonjolí. Por último se estimó una cuenta promedio de 100 UFC/g de **Hongos y Levaduras** por extensión en superficie sobre Agar Papa Dextrosa acidificado, que cayó por debajo de todas las especificaciones, con lo que se manifestó el empleo de buenas prácticas tanto en el proceso como en el almacenamiento de la harina.

Dadas las cuentas microbianas estimadas fue posible afirmar que la calidad microbiológica de la harina de ajonjolí es buena, por lo tanto es apta para su utilización como materia prima.

Tabla 7. Evaluación microbiológica de la harina de ajonjolí y límites máximos permitidos^a

Harina	Mesófilos Aerobios (UFC/g)	Coliformes Totales (NMP o UFC/g) ^b	Hongos y Levaduras (UFC/g)
Ajonjolí	65,000 ^c	6	100 ^c
Trigo, sémolas o semolinas	50,000	150	300
Maíz	100,000	100	1000
M. nixtamalizado	50,000	100	1000
Centeno	100,000	100	200
Cebada	100,000	100	200
Avena	50,000	50	100
Arroz	100,000	100	200
Integral	500,000	500	500

Determinaciones hechas por duplicado

^a La preparación de la muestra e inoculaciones de los medios se realizaron de acuerdo con los métodos de Wachter⁵¹ y para el cálculo del NMP se utilizó la tabla de Garthright⁵²

^b Los resultados experimentales de Coliformes Totales en harina de ajonjolí se expresaron como NMP/g mientras que las especificaciones de la NOM-147-SSA1-1996⁵⁹ están señaladas como UFC/g.

^c Estos resultados son estimaciones debido a que se obtuvieron en placas con colonias no representativas.

7.3 EVALUACIÓN BROMATOLÓGICA

7.3.1 Análisis Proximal

Los resultados del análisis proximal de la harina de ajonjolí se muestran en la Tabla 8. Se observó un alto contenido de **proteína** (41.6%) de acuerdo a lo que se esperaba, ya que se trata de harina obtenida tras la extracción de aceite y que como se mostró en la Tabla 4 el contenido promedio reportado en la literatura para harinas de ajonjolí con una cantidad similar de extracto etéreo es de aproximadamente 42%. Ésto la reafirma como fuente potencial de **aminoácidos**. El nivel de **fibra cruda** encontrado correspondió a 7.2%, y aunque como ya se explicó en la sección 3.2.2 dicha determinación constituye una medida inexacta del contenido de celulosa y lignina, fue útil como indicador de la posible presencia de una cantidad más importante de fibra dietaria, la cual se incluyó inespecíficamente en los **hidratos de carbono** calculados por diferencia en el análisis proximal y cuyo contenido a su vez fue también alto (35.4%). Por tanto, fue de interés realizar una determinación más exacta de fibra dietaria soluble e insoluble, resultados que se

presentarán en la siguiente sección. La harina de ajonjolí mostró además una baja **humedad** (5.4%), condición que garantiza su buena calidad microbiológica y que se situó en un nivel muy inferior al límite máximo establecido (correspondiente a 15%) en la NOM-147-SSA1-1996⁵⁹. Con respecto a las **cenizas** se obtuvo un valor promedio (7.5%) de acuerdo con los datos mostrados en la Tabla 4. Por lo anterior, representa una fuente potencial de minerales esenciales aunque también originó cierta preocupación en torno a la posible presencia de metales pesados por lo cual se procedió a su análisis y cuyo resultado se presentará más adelante. En lo referente al **extracto etéreo** se determinó un contenido de 2.9%, indicando una buena eficiencia durante los procesos de extracción del aceite, ya que la semilla de ajonjolí sin descascarillar contiene entre 45 y 63% de aceite (ver sección 3.3).

Cabe hacer notar que el contenido de cada componente de la harina de ajonjolí determinado por el análisis proximal fue similar al de las harinas obtenidas mediante procesos equivalentes y que se mencionaron en la sección de antecedentes.

Tabla 8. Análisis Proximal de la harina de ajonjolí

Determinación	g/100g
Humedad	5.4
Cenizas	7.5
Extracto Etéreo	2.9
Proteína (N x 5.3)	41.6
Fibra Cruda	7.2
Hidratos de Carbono (por diferencia)	35.4

Laboratorio de Alimentos del Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición, Salvador Zubirán.

7.3.2 Determinación de Fibra Dietaria

La determinación de fibra dietaria, de acuerdo con el método 985.29 del AOAC²², consiste en la digestión enzimática de muestras previamente gelatinizadas con una α -amilasa termoestable, utilizando una proteasa y una amiloglucosidasa para remover la proteína y el almidón respectivamente. La fibra soluble precipita tras la adición de etanol, el residuo se seca y a su peso se le resta tanto el contenido de cenizas como el de proteína remanente en él para calcular fibra dietaria total, pudiendo determinar la fracción insoluble directamente al filtrar el residuo previo a la precipitación con etanol. Los resultados de las determinaciones de fibra dietaria soluble e insoluble en harina de ajonjolí se muestran en la Tabla 9. Se observó que el nivel de **fibra dietaria total** (8.49%) sobrepasó el contenido de **fibra cruda** (7.2%) determinado en el análisis proximal. Esta diferencia se esperaba ya que como se indicó en la sección 3.2.2, la determinación de fibra cruda es una cuantificación inexacta de celulosa y lignina únicamente, ya que algunas fracciones de polisacáridos no digeribles por el humano, como hemicelulosa y fibra soluble, se pierden durante dicho análisis³³.

En lo referente a las dos fracciones que componen a la **fibra dietaria**, se encontró que la fracción **insoluble** (7.59%) constituyó el 89% del total, mientras que la fracción **soluble** (0.9%) el restante 11%.

Resulta evidente que al ingerir 100 g de harina de ajonjolí se cubriría entre una quinta y una cuarta parte de la ingesta diaria recomendada de fibra dietaria que se sitúa entre 30 y 45 g/día en distintos países, contribuyendo principalmente con el consumo de la fracción insoluble, la cual debe representar entre un 50 y 70% del total diario³².

Como ya se ha mencionado con anterioridad (sección 3.2.2), al incluir este componente en la dieta se producen varias reacciones fisiológicas que conllevan una gran cantidad de beneficios a la salud, entre los que destacan el efecto laxante que favorece el tratamiento de la constipación, padecimiento frecuente en personas de la Tercera Edad. Además una alta ingesta de fibra dietaria en combinación con dietas bajas en lípidos, especialmente aquéllos de naturaleza saturada y el colesterol, ha sido asociada con la disminución del riesgo de padecer tanto algunos tipos de cáncer como ciertas enfermedades cardíacas⁶⁰.

Tabla 9. Determinación de fibra dietaria soluble e insoluble en la harina de ajonjolí

Fibra dietaria	g/100g
Soluble	0.90
Insoluble	7.59
Total	8.49

American Quality Lab.

7.4 EVALUACIÓN NUTRICIONAL

Los resultados obtenidos mediante los distintos métodos de evaluación de la calidad proteínica se discuten a continuación y se presentan de forma condensada en la Tabla 18, al final de la sección.

7.4.1 Relación de la Eficiencia de la Proteína (PER) y Relación Neta de la Proteína (NPR)

La harina de ajonjolí con la que se formularon las dietas correspondientes tuvo un tratamiento previo de irradiación (8kGy) con objeto de reducir al máximo la carga microbiana ya que el bioensayo se realizó utilizando ratas libres de patógenos.

El peso de cada una de las ratas pertenecientes a los lotes cuyas dietas incluyeron harina de ajonjolí o caseína como fuente proteínica se registró a lo largo de los 28 días que duró la evaluación de PER, monitoreando también el consumo de su respectiva dieta. En el caso de las ratas que recibieron una dieta libre de nitrógeno estos parámetros se siguieron solamente durante los 14 días de la determinación de NPR. En la Figura 4a y Tabla 10 se presenta el incremento acumulativo promedio de peso para cada lote de ratas, donde se observó claramente que el aumento fue siempre mayor en el grupo que recibió dieta con caseína que en el que consumió dieta con harina de ajonjolí aunque también se evidenció una mayor dispersión. Por su parte el grupo metabólico, presentó como se esperaba, una pérdida de peso. En la

Figura 4b y Tabla 11 se muestran los consumos acumulativos promedio para los mismos lotes, en que se apreció que los correspondientes al lote alimentado con dieta a base de caseína y al del lote de dieta con harina de ajonjolí fueron equiparables y ambos superiores al consumo del lote sometido a dieta metabólica. Estas curvas explican los resultados de PER y NPR que se obtuvieron (Tabla 12), ya que PER se calculó mediante el porcentaje del cociente del incremento de peso entre el consumo de proteína, efectuando la adición en el numerador del valor absoluto de la pérdida de peso del grupo metabólico para el caso de NPR. Dado que el nivel de consumo total de proteína, tanto del grupo con caseína como del de harina fue comparable, el valor de PER y NPR fue mayor para aquél que presentó un incremento de peso superior, es decir, la dieta de caseína (PER = 3.09, NPR = 4.38) indicando que la calidad de esta fuente proteínica es mayor que la de la harina de ajonjolí (PER = 2.10, NPR = 3.34). El valor de PER refleja una mejor eficiencia de la caseína como fuente de aminoácidos con la consecuente construcción de más masa corporal en las ratas. La determinación de NPR demostró que la harina de ajonjolí fue útil como fuente de nutrimentos, tanto para el mantenimiento de las funciones vitales, como para el aumento de peso de los animales, por ésto resultó ser un indicador más íntegro que PER. Cabe señalar que el valor de PER obtenido para la harina de ajonjolí fue mucho mayor a uno de 1.4 que fue publicado anteriormente⁴¹.

En la Tabla 13 se muestra el contenido de proteína de cada dieta, resaltando que fue mayor en el caso de la formulada a base de caseína debido a que se estandarizó el contenido de nitrógeno para preparar las dietas y posteriormente se utilizaron factores específicos para calcular el contenido proteínico de cada una.

Cabe hacer notar que los cálculos de los coeficientes de variación para PER fueron de 5.23 y 3.86% en los lotes con dietas a base de harina de ajonjolí y caseína (Tabla 12), respectivamente y para NPR resultaron de 3.92 y 4.20% en los grupos mencionados, indicando que se obtuvo una repetibilidad muy buena en ambas determinaciones, lo cual se debió probablemente a un buen control de las condiciones ambientales así como a una baja variabilidad biológica.

En cuanto a los valores de R-PER y R-NPR de la harina de ajonjolí (Tabla 12), calculados como el porcentaje de PER y NPR de la harina con respecto al valor correspondiente de caseína, cabe señalar que como se ha discutido anteriormente (ver sección 3.2.1.1) el resultado de R-PER no significa que la calidad de la proteína de ajonjolí sea el 67.75% del valor de la caseína ya que PER no es un valor directamente proporcional a la calidad, mientras que NPR al acreditar la proteína usada para el mantenimiento del organismo sí lo es, indicando que la calidad de la proteína de ajonjolí es equivalente al 76.22% de la de caseína, según el dato de R-NPR. Aunque la ventaja de éstos métodos con respecto a ensayos *in vitro*, es que permiten una evaluación indirecta de la presencia de factores tóxicos y antinutricionales, es importante no perder de vista que estas pruebas miden la calidad con base en los requerimientos de las ratas y que éstos son distintos a los del humano por lo que se puede subestimar el valor nutricional de proteínas para consumo humano en especial las de origen vegetal.

Con respecto a otras fuentes proteínicas de origen vegetal, se ha publicado que el R-PER para soya³⁰ varía de 64 a 90% en harinas y de 56 a 84% en aislados, mientras que el de garbanzo⁶¹ es de 89%. Por su parte los valores de R-NPR para proteína foliar de *Atriplex suberecta*⁶² y harina de amaranto⁶³ son 88 y 60% respectivamente. Al comparar estos datos de la literatura con los valores obtenidos para la harina de ajonjolí, se observa que la calidad de ésta es superior a la de algunas harinas de soya y a la de amaranto.

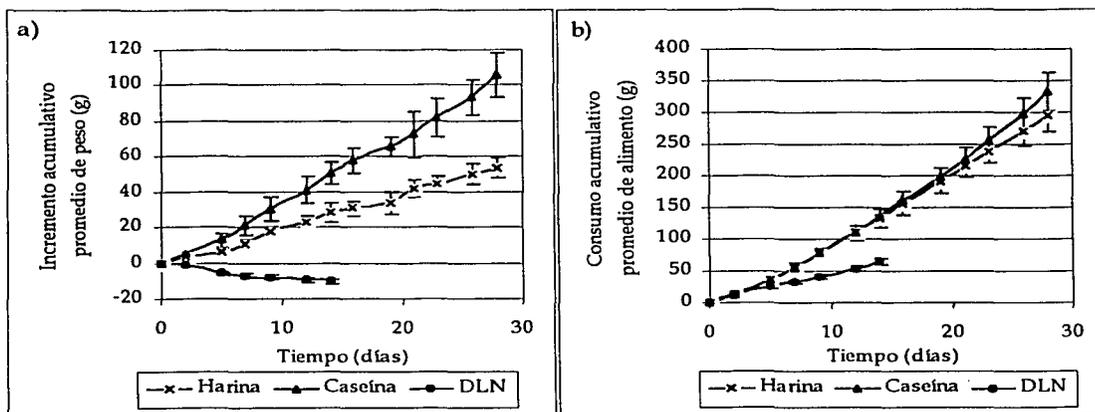


Figura 4. Seguimiento del cambio de peso (a) y del consumo de dieta (b), de los 3 lotes de ratas utilizados para la evaluación de PER y NPR, a los que se les administro respectivamente una dieta con harina de ajonjolí como fuente proteínic, una con caseína y una libre de nitrógeno. Determinación hecha por sextuplicado.

Tabla 10. Seguimiento del cambio de peso de los 3 lotes de ratas utilizados para la evaluación de PER y NPR, a los que se les administraron respectivamente dietas con harina de ajonjolí o caseína como fuente proteínic, y una libre de nitrógeno

Dieta	Harina de ajonjolí		Caseína		Libre de nitrógeno	
	Incremento acumulativo promedio de peso (g)	s	Incremento acumulativo promedio de peso (g)	s	Incremento acumulativo promedio de peso (g)	s
0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
2	2.85	0.85	5.03	0.59	-1.02	1.09
5	6.08	1.97	12.62	4.00	-5.57	1.14
7	10.38	2.84	20.65	5.40	-7.18	1.27
9	17.57	2.75	30.27	6.47	-8.10	1.12
12	22.93	3.87	40.98	7.70	-9.68	1.31
14	28.08	5.08	50.18	6.41	-10.42	1.55
16	30.62	4.18	57.38	7.27		
19	33.58	6.31	65.50	5.20		
21	41.87	4.69	72.40	13.16		
23	44.22	4.42	81.60	10.59		
26	49.70	5.72	92.97	9.67		
28	53.57	6.06	105.45	12.42		

Tabla 11 Seguimiento del consumo de dieta de los 3 lotes de ratas utilizados para la evaluación de PER y NPR, a los que se les administraron respectivamente dietas con harina de ajonjolí o caseína como fuente proteínica, y una libre de nitrógeno

Dieta Día	Harina de ajonjolí		Caseína		Libre de nitrógeno	
	Consumo acumulativo promedio de alimento (g)	s	Consumo acumulativo promedio d alimento (g)	s	Consumo acumulativo promedio de alimento (g)	s
0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
2	13.18	2.10	13.13	1.25	12.37	2.64
5	35.95	3.81	35.87	3.59	24.57	3.12
7	55.57	6.21	55.17	6.17	32.60	3.46
9	76.48	9.35	76.62	8.38	41.20	3.84
12	109.52	13.23	110.43	10.62	53.50	4.31
14	132.97	16.18	134.75	11.97	64.40	5.29
16	154.82	16.59	160.67	13.13		
19	189.87	16.40	198.60	13.84		
21	214.53	17.27	224.65	20.27		
23	237.68	18.66	253.88	22.42		
26	270.53	21.89	296.78	25.46		
28	294.08	24.34	331.35	29.91		

Determinaciones hechas por sextuplicado.

Tabla 12. PER, R-PER, NPR y RNPR de la harina de ajonjolí y caseína.

Rata	PER harina de ajonjolí	PER caseína	R-PER harina de ajonjolí (%)	NPR harina de ajonjolí	NPR caseína	R-NPR harina de ajonjolí (%)
1	2.13	3.15	68.92	3.30	4.69	75.39
2	2.17	3.18	70.04	3.37	4.50	77.09
3	2.05	3.18	66.32	3.45	4.28	78.85
4	1.90	2.87	61.58	3.19	4.20	72.86
5	2.22	3.04	71.77	3.50	4.35	80.08
6	2.10	3.13	67.84	3.20	4.24	73.06
Promedio	2.10	3.09	67.75	3.34	4.38	76.22
s	0.11	0.12	3.55	0.13	0.18	2.98
CV (%)	5.23	3.86	5.23	3.92	4.20	3.92

Tabla 13. Contenido de nitrógeno^a y proteína en las dietas administradas a los grupos de ratas usados para evaluar PER y NPR

Dieta	Nitrógeno (%)	F	Proteína (%)	s
Harina de ajonjolí	1.64	5.30	8.68	0.21
Caseína	1.61	6.38	10.27	0.00
DLN	0.07	6.25	0.44	0.00

^a Determinación hecha por duplicado.

7.4.2 Digestibilidad Verdadera (DV) y Digestibilidad Aparente (DA)

Para la evaluación, tanto de la DV, como de la DA se utilizó harina de ajonjolí irradiada a 8 kGy por la misma razón explicada en la sección anterior. Se determinó, durante el periodo de balance, el nitrógeno ingerido y excretado por cada una de las ratas que recibieron dieta con harina de ajonjolí, caseína o libre de nitrógeno, calculando el cociente del nitrógeno absorbido entre el ingerido para la DA, y realizando la adición en el numerador del nitrógeno excretado por el grupo metabólico para el caso de la DV. Los resultados de las determinaciones de nitrógeno se presentan en la Tabla 14, donde se observó una similitud en las ingestas de nitrógeno por parte de los grupos sometidos a dietas con caseína y harina de ajonjolí, aunque es ligeramente mayor la de éste último. En cuanto a la excreta fue también mayor la del grupo con dieta de harina de ajonjolí pero en una proporción superior a la de la ingesta, razón por la cual se explica la manifestación de una menor DV de dicha fuente proteínica (90.95%) comparada con la de la caseína (96.05%), proporción observada también en los valores de DA que fueron de 89.19 y 94.21% respectivamente (Tabla 15).

Por otro lado se observó que el grupo metabólico excretó una cantidad de nitrógeno equivalente a la tercera parte de la excretada por el grupo con dieta de caseína. Esto pone de manifiesto la importancia de introducir este término en el cálculo de la DV en el cual se elimina la subestimación en que se incurre al estimar la DA, donde no se toma en cuenta dicha excreta que corresponde al nitrógeno producido por la flora intestinal de las ratas y al proveniente de la eliminación de células de la mucosa intestinal²⁷.

Con respecto a los coeficientes de variación (Tabla 15), para DV fueron de 0.42 y 1.1% en los lotes con dietas a base de harina de ajonjolí y caseína respectivamente, y para DA fueron de 0.58 y 1.16% en los grupos mencionados, lo cual manifiesta una mejor repetibilidad que la obtenida con PER y NPR.

Los resultados de DV y DA fueron importantes ya que en general se considera que las proteínas de origen vegetal son de calidad inferior a las de origen animal. Es notable que, si bien la harina de ajonjolí presentó un valor inferior al de la caseína, éste fue alto comparado con el de otras proteínas. Se han reportado valores de DV de 92, 81, 76 y 93.07% en aislado de soya³⁰, harina de amaranto⁶³, proteína foliar⁶² y proteína unicelular⁶⁴ respectivamente; y para garbanzo⁶¹ una DA de 80.5%. Se observó como la DV y DA de la harina de ajonjolí son superiores a todas las de origen vegetal citadas con excepción de la del aislado de soya y es menor también que la DV de la proteína unicelular.

Por otra parte, el procedimiento experimental para llevar a cabo el ensayo de DV fue mucho más sencillo, corto y económico que PER y NPR. Además, en vez de ser una medida de la eficiencia con que la proteína administrada favorece el crecimiento de un modelo animal que, como ya se ha discutido anteriormente, tiene requerimientos nutricionales distintos de los del humano, es un indicador de la biodisponibilidad de los aminoácidos, habiéndose demostrado por algunos autores que la digestibilidad de las proteínas es muy parecida en humanos y ratas²⁹.

Tabla 14. Contenido de nitrógeno en las dietas administradas a los grupos de ratas usados para evaluar DV y DA así como cantidad ingerida y excretada del mismo elemento

Dieta	Nitrógeno en dieta ^a (%)	s	Nitrógeno ingerido ^b (g)	s	Nitrógeno excretado ^c (g)	s
Harina de ajonjolí	1.60	0.02	0.805	0.075	0.087	0.006
Caseína	1.67	0.04	0.785	0.163	0.045	0.010
DLN	0.07	0.00	0.015	0.001	0.014	0.003

^a Determinación hecha por duplicado.

^b Promedio de 6 réplicas.

^c Promedio de 12 réplicas.

Tabla 15. Digestibilidad Verdadera (DV) y Aparente (DA) de la harina de ajonjolí y caseína.

Rata	Harina de ajonjolí		Caseína	
	DV (%)	DA (%)	DV (%)	DA (%)
1	90.94	89.17	94.33	92.37
2	91.48	89.75	96.86	95.49
3	90.42	88.33	96.07	93.89
4	91.06	89.45	97.33	95.10
5	91.15	89.56	95.54	94.07
6	90.62	88.90	96.17	94.31
Promedio	90.95	89.19	96.05	94.21
s	0.38	0.52	1.05	1.09
CV(%)	0.42	0.58	1.10	1.16

7.4.3 Cuenta Química (CQ) y Cuenta Química corregida con Digestibilidad (CQ x DV)

En la Tabla 16 se muestra la composición de aminoácidos indispensables de la harina del ajonjolí, así como el patrón general sugerido por la FAO/WHO/UNU², la relación entre ambos y los requerimientos para adultos². Se observó que el contenido de todos los aminoácidos indispensables, con excepción de la

lisina, superó los requerimientos humanos establecidos en el patrón. Es notable el alto contenido de aminoácidos azufrados e histidina y contrario a lo que se había discutido en la sección 3.3.3 el contenido de isoleucina no fue deficiente. La lisina es el aminoácido limitante, la CQ tuvo un valor de 66.31%, valor diferente del reportado en la sección a la que se hizo la anterior referencia, ya que fue calculado usando un patrón diferente. No obstante, cabe hacer notar que los requerimientos de adultos son inferiores a los establecidos en el patrón de referencia y con respecto a ellos la composición de la harina de ajonjolí no es deficiente en ningún aminoácido indispensable, por lo que podría cubrir los requerimientos de este sector de la población sin necesidad de complementación.

Al realizar la corrección calculando el producto de la CQ, expresada como cociente, por la DV resultó un valor de 60.31% que fue un 40% menor del obtenido para la caseína (96.05%). Con respecto a otras fuentes proteínicas de origen vegetal, se ha publicado que la composición de aminoácidos de la soya no presenta deficiencias de ningún aminoácido indispensable por lo que la CQ (100%) corregida con DV (92%) resultó ser de 92%. Por otra parte la CQ reportada para la harina de amaranto fue de 96% siendo limitantes los aminoácidos azufrados, y al hacer la corrección con DV (76%) resultó un valor de 72.96% ⁶³. Al comparar estos valores con el obtenido para la harina de ajonjolí se observa que la calidad de la proteína de esta última es también inferior. A pesar de tener un contenido alto del resto de los aminoácidos indispensables la deficiencia de lisina determina que la calidad de la proteína de ajonjolí sea baja, hecho que podría remediarse fácilmente mediante complementación utilizando alguna otra fuente proteínica rica en lisina. La CQ se calcula con respecto a un patrón que se basa en los requerimientos de los humanos y permite evaluar la calidad de una fuente proteínica de una manera más adecuada a comparación de los bioensayos, donde se mide el crecimiento de ratas. Por otra parte al ser corregida con el valor de la DV, se toma en cuenta la biodisponibilidad de los aminoácidos, resultando un valor que indica de manera más objetiva la calidad de la fuente proteínica.

Tabla 16. Contenido de aminoácidos indispensables de la proteína de ajonjolí, patrón general de referencia basado en los requerimientos de aminoácidos esenciales de niños preescolares (2-5 años) cuenta química general de la proteína de ajonjolí, requerimiento de adultos y cuenta química correspondiente

Aminoácido esencial	Contenido en ajonjolí (mg _{aa} /g _{proteína}) ^a	Patrón General (mg _{aa} /g _{proteína}) ^b	Cuenta Química General (%) ^c	Requerimiento de adultos (mg _{aa} /g _{proteína}) ^b	Cuenta Química para adultos (%) ^d
Histidina	34	19	178.39	16	211.84
Isoleucina	46	28	163.98	13	353.18
Leucina	91	66	138.04	19	479.50
Lisina	38	58	66.31	16	240.38
Metionina y cistina	72	25	288.46	17	424.21
Fenilalanina y tirosina	105	63	166.36	19	551.62
Treonina	47	34	138.57	9	523.50
Triptofano	18	11	161.71	5	355.77
Valina	59	35	168.96	13	454.88

^a Proteína = N x 5.3. Perfil de aminoácidos determinado por el Laboratorio Silliker, Inc.

^b Fuente: FAO/WHO/UNU, 1985 (Ref. 2).

^c Calculada con respecto al patrón.

^d Calculada con respecto al requerimiento de adultos.

7.4.4 Digestibilidad *in vitro* (Di)

El pH de una suspensión proteínica 10 min después de la adición de una mezcla enzimática constituida por tripsina, quimotripsina y peptidasa, presenta una alta correlación con la DA determinada en ratas⁵³. En este ensayo se utilizó tanto la harina de ajonjolí irradiada como la no irradiada para comprobar que no hubo efecto sobre la digestibilidad como resultado de la irradiación a 8 kGy. Se ha sugerido que mediante la degradación radiolítica de polisacáridos es posible mejorar la digestibilidad del alimento administrado al ganado, sin embargo para que el tratamiento resulte efectivo se recomienda la aplicación de dosis superiores a 100 kGy. Mediante bioensayos y análisis químicos se ha demostrado que los efectos de la irradiación sobre los macronutrientes son bajos en el intervalo de 10-50 kGy, aunque se ha llegado a observar variaciones inferiores al 1% en la digestibilidad de ratas alimentadas con dietas irradiadas entre 0-10 kGy⁶⁵.

Previo a la determinación de Digestibilidad *in vitro* de la caseína y de la harina de ajonjolí irradiada a 8 kGy y sin irradiar, se procedió a la determinación de la capacidad de amortiguamiento de cada muestra, en suspensiones preparadas de igual modo que las utilizadas en la digestión multienzimática. El volumen de HCl 0.0115 N gastado para titular una suspensión de 6.25g_{proteína}/mL desde pH 8 a pH 6.45 se utilizó como índice de la capacidad de amortiguamiento, obteniendo valores de 5.2 ± 0.21, 5.4 ± 0.00 y 5.4 ± 0.07 mL (promedio ± desviación estándar, determinaciones hechas por duplicado) para las suspensiones de caseína, harina y harina irradiada, respectivamente. Estos valores fueron del orden de los publicados para distintas muestras⁵³, en las que la capacidad de amortiguamiento no interfirió con la medición de la

Digestibilidad *in vitro*, que se evaluó con base en la caída de pH debida a la liberación de grupos carboxilo por la acción de la mezcla enzimática sobre las proteínas en suspensión.

El pH se monitoreó durante los 10 min en que se incubaron las suspensiones proteínicas tras la adición de las enzimas, de donde se obtuvieron las curvas que se presentan en la Figura 5 y Tabla 17. Se observó que las tres muestras analizadas presentaron una disminución brusca del pH durante el primer minuto, tras lo cual continuó descendiendo de una manera paulatina, manteniéndose casi constante al final de las determinaciones. Las tendencias de las tres curvas fueron iguales, aunque se evidenció, como era esperado, una caída de pH mayor para la caseína cuya Digestibilidad *in vitro* fue de 92.18%. Con los resultados obtenidos se comprobó que la irradiación a la que se sometió la harina utilizada en los bioensayos no afectó la digestibilidad de ésta, ya que las curvas fueron prácticamente iguales y se determinó una Digestibilidad *in vitro* de 89.28 para la harina irradiada y de 89.19% para la no irradiada.

El modelo de regresión utilizado para el cálculo de Digestibilidad *in vitro* se obtuvo a partir de la curva de DA con respecto al pH determinado a los 10 min⁵³, por lo que se esperaba obtener una similitud entre los valores de DA y Digestibilidad *in vitro* determinados para harina de ajonjolí y caseína. Para la harina de ajonjolí irradiada el valor fue prácticamente el mismo, mientras que para caseína la DA fue mayor en dos unidades.

La desventaja de los ensayos *in vitro* con respecto a los bioensayos es que en ellos no se evalúa la respuesta al alimento administrado, en otras palabras, no se podría observar por ejemplo el efecto de factores tóxicos ni determinar la eficiencia en la absorción de aminoácidos. No obstante, la Digestibilidad *in vitro* llevada a cabo mediante este método resultó ser un buen estimador de la digestibilidad de las muestras analizadas, ya que de hecho el coeficiente de correlación reportado por los autores fue de 0.9 y representa una alternativa de costo significativamente menor y mayor sencillez experimental que los bioensayos. Sin embargo, como ya se había discutido anteriormente, el cálculo de DA introduce cierta subestimación de la Digestibilidad (ver sección 3.2.1.1), por lo que sería conveniente utilizar un modelo de regresión obtenido a partir de una curva de DV contra el pH determinado a los 10 min para obtener una ecuación que permita estimar la Digestibilidad de una manera más exacta.

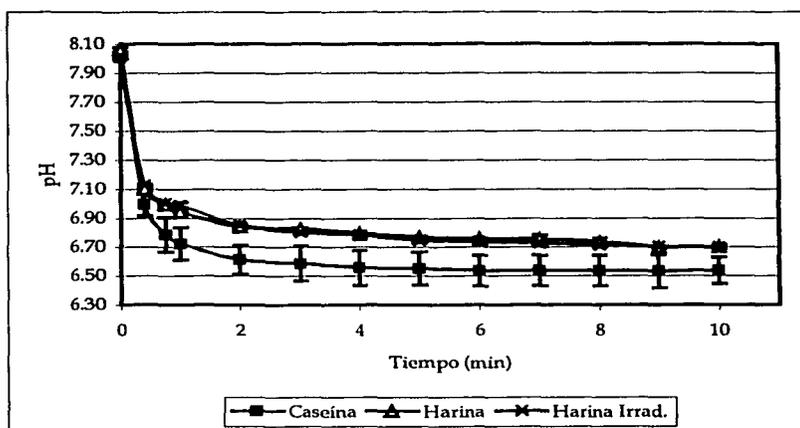


Figura 5. Seguimiento del pH durante los 10 min de incubación de las suspensiones proteínicas tras la adición de la mezcla enzimática. Determinación hecha por duplicado.

Tabla 17. Seguimiento del pH durante los 10 min de incubación de las suspensiones proteínicas tras la adición de la mezcla enzimática, para el cálculo de la Digestibilidad *in vitro*

Tiempo (min)	Caseína		Harina		Harina Irradiada 8 kGy	
	pH	s	pH	s	pH	s
0	8.01	0.01	8.06	0.01	8.02	0.02
0.42	7.00	0.08	7.10	0.00	7.13	0.01
0.75	6.79	0.12	7.00	0.01	7.00	0.00
1	6.72	0.11	6.94	0.00	6.99	0.02
2	6.61	0.10	6.84	0.01	6.85	0.01
3	6.59	0.12	6.83	0.01	6.80	0.01
4	6.56	0.12	6.80	0.01	6.78	0.03
5	6.55	0.11	6.77	0.01	6.75	0.01
6	6.54	0.11	6.76	0.01	6.74	0.02
7	6.54	0.11	6.75	0.03	6.73	0.02
8	6.54	0.11	6.73	0.03	6.71	0.01
9	6.53	0.11	6.70	0.01	6.70	0.00
10	6.54	0.09	6.70	0.01	6.70	0.01

Determinación hecha por duplicado

Tabla 18. Evaluación de la calidad de la proteína de harina de ajonjolí y de caseína.

	Harina de ajonjolí^{a,b}	Caseína^a
PER ^c	2.10 ± 0.11	3.09 ± 0.12
R-PER ^c	67.75 ± 3.55 %	100%
NPR ^c	3.34 ± 0.13	4.38 ± 0.18
R-NPR ^c	76.22 ± 2.98 %	100%
DV ^c	90.95 ± 0.38%	96.05 ± 1.05%
DA ^c	89.19 ± 0.52%	94.21 ± 1.09%
D ⁱ ^d	89.28 ± 0.13%	92.18 ± 1.66%
CQ	66.31 % (Lisina)	100% ^e
CQ x DV ^c	60.31 ± 0.25%	96.05 ± 1.05%

^a Promedio ± desviación estándar.

^b La harina de ajonjolí evaluada fue irradiada a 8 kGy previamente, la DA de harina de ajonjolí sin irradiar fue de 89.19 ± 0.26%.

^c Calculados a partir de los datos de lotes con 6 ratas cada uno.

^d Determinación hecha por duplicado.

^e Fuente: Ref. 66

7.4.5 Determinación de Selenio

La determinación de selenio en harina de ajonjolí se llevó a cabo por el Laboratorio de Análisis Físicos y Químicos del Ambiente del Instituto de Geografía de la UNAM. Se obtuvo un valor de:

0.32 mg /kg.

Este resultado tiene gran relevancia ya que de acuerdo con lo que se indicó en la sección 3.2.3, el selenio es uno de los minerales traza indispensables para el humano. De hecho la Ingesta de Nutrientes de Referencia (RNI) establecida en el Reino Unido para mujeres correspondiente a 62 µg/día de selenio podría ser totalmente cubierta al ingerir 200 g de harina de ajonjolí. Ésto ofrece una alternativa al uso de suplementos en la dieta, a la fortificación de productos alimenticios con selenio y a la adición de selenito de sodio en fertilizantes para los habitantes de regiones donde el contenido normal de selenio en suelo y por tanto en los alimentos es bajo. Lo anterior podría permitir un mejor control de la ingesta de selenio reduciendo el riesgo de sobrepasar los límites de ingesta segura, así como de la acumulación de ciertas formas químicas que pueden resultar tóxicas a largo plazo, además de evitar los efectos indeseables que un alto contenido de este elemento produce en atributos sensoriales como el color y olor.

En la sección 3.3.3 se señaló que el contenido reportado de selenio en harinas de distintas variedades de ajonjolí fluctuaba entre 1.3 y 11.9ppm, niveles muy superiores al determinado experimentalmente en el presente trabajo. Esto pudo deberse tanto a diferencias en el contenido de selenio del suelo en donde el ajonjolí fue cultivado, al grado de descascarillado de las semillas, y a la variedad de ajonjolí procesada.

7.4.6 Determinación de Factores Antinutricionales

Los resultados de las determinaciones de ácido fítico y ácido oxálico en harina de ajonjolí, se presentan en la Tabla 19. El nivel de ácido fítico de 6.2% encontrado era esperado ya que como se señaló en la sección

3.3.3, anteriormente se había publicado un contenido de 5% en la semilla mismo que incluso se incrementa al ser ésta descascarillada. Esto debe tomarse en cuenta al formular alimentos a base de harina de ajonjolí porque la presencia de cantidades substanciales de fitato en la dieta pueden dar lugar a la aparición de deficiencias minerales, ya que se sabe que el efecto antinutricional de los fitatos se manifiesta al formar complejos con iones metálicos di y trivalentes entre los que se encuentran el calcio, magnesio, cobre, hierro, molibdeno y zinc⁶⁷, por lo que la biodisponibilidad de este último es la que se ve más severamente disminuída⁵⁰. Dado que los fitatos se presentan frecuentemente en cereales y en soya, donde constituyen una fuente de reserva de fósforo⁶⁸, se pueden emplear distintas estrategias para reducir ya sea su contenido o su efecto antinutricional. Tales como la activación de fitasas ya sea endógenas o de origen microbiano mediante el remojo, germinación o fermentación⁶⁹, la utilización de resinas de intercambio iónico⁷⁰, la suplementación de minerales en la dieta, el control de la cantidad de harina utilizada en el producto alimenticio y la frecuencia de uso del mismo.

Por su parte el contenido de ácido oxálico en la harina de ajonjolí fue inferior al límite de detección del método mediante el que se cuantificó, es decir menor a 0.02%, lo cual manifestó una eliminación muy eficiente de la espermodermis, región que contiene los cristales de oxalato de calcio en las semillas⁷¹, como resultado de su descascarillado favorecido probablemente por el tamizado de la harina a través de la malla 40, ya que como se mencionó en la sección 3.3.3 el contenido de ácido oxálico en la pasta residual puede llegar hasta 2-3%. Esta eliminación es importante ya que la presencia de oxalatos en la dieta disminuye la biodisponibilidad principalmente de calcio, aunque también de magnesio y hierro, al formar sales insolubles en agua. Además algunos autores han señalado la contribución del oxalato en la formación de cálculos en los túbulos renales al precipitar como oxalato de calcio^{67,72}.

Tabla 19. Determinación de ácido oxálico y ácido fítico en harina de ajonjolí.

Factor antinutricional	Contenido (%)
Ácido fítico	6.2
Ácido oxálico	< 0.02

Departamento de Control Analítico de la Facultad de Química de la UNAM

7.4.7 Determinación de Metales Pesados

Los resultados de las determinaciones de plomo y cadmio en harina de ajonjolí así como los límites máximos establecidos en la NOM-147-SSA1- 1996⁵⁹ para ambos metales en alimentos a base de semillas comestibles, se presentan en la Tabla 20. El contenido de plomo en la harina fue inferior al límite de detección mediante el que se cuantificó, es decir menor a 0.3 mg/kg, lo cual indicó ya sea la ausencia del metal o al menos un nivel inferior al establecido como límite máximo en la norma. Esta determinación fue

importante para garantizar al menos un nivel bajo de éste, metal pesado de gran toxicidad que se acumula en los huesos, hígado y riñón, que afecta al sistema nervioso central y causa nefritis crónica y anemia^{72,73}. Con respecto al cadmio, el contenido en la harina de ajonjolí fue de 0.23 mg/kg, nivel que duplica el límite máximo establecido por la norma. Este resultado generó una gran preocupación ya que a pesar de su baja absorción, se sabe que el cadmio se acumula en hígado y riñones teniendo una vida media en humanos de 20-30 años⁷², causando lesiones en los túbulos renales principalmente, además de retraso en el crecimiento, disparidad en la reproducción, hipertensión e incluso cáncer⁷³. Basándose en cálculos toxicocinéticos que consideran tanto el grado de absorción como de excreta diaria y mediante modelos de regresión que midiendo la relación dosis-respuesta determinaron una concentración de 50 mg/kg en la corteza renal como aquella bajo la cual el riesgo de daño renal es leve, se ha estimado que dicho nivel puede alcanzarse con una ingesta diaria de cadmio de 1 µg/kg de peso corporal³⁸. Lo anterior indicó que si una persona de 70 kg consumiera los 200 g de esta harina de ajonjolí necesarios para cubrir los requerimientos diarios de selenio estaría ingiriendo aproximadamente el 65% del nivel cadmio considerado todavía como de bajo riesgo, aunque habría que tomar en cuenta otras fuentes de este metal en la dieta.

Evidentemente es necesario determinar el contenido de cadmio en una muestra representativa y quizá determinar la especie presente ya que se ha planteado la posibilidad de que existan diferencias en el comportamiento de distintas formas orgánicas e inorgánicas³⁸. Además para la eliminación de los riesgos que conlleva la ingestión de cadmio es necesario identificar si la fuente de contaminación de la harina provino del suelo, de donde a diferencia del plomo el cadmio se transfiere fácilmente a los vegetales, o si se debe a aguas residuales de la industria, o si proviene de los lodos de depuradoras que suelen utilizarse como fertilizantes, o del equipo en que se procesó, ya que las superficies de acero y hierro frecuentemente poseen un recubrimiento de cadmio que les confiere una mayor resistencia contra agentes químicos.

Tabla 20. Determinaciones de plomo y cadmio en harina de ajonjolí, y límites máximos permitidos

Metal pesado	Contenido (mg/kg)	Límite máx (mg/kg) ^a
Plomo	< 0.3	0.5
Cadmio	0.23	0.1

Laboratorio de Análisis Físicos y Químicos del Ambiente del Instituto de Geografía de la UNAM

^a NOM-147-SSA1-1996⁵⁹

7.5 EVALUACIÓN FUNCIONAL

7.5.1 Solubilidad

Se solubilizaron 0.63 g muestra en 30 mL agua a cada pH, agitando a 120 rpm, 37°C/2h, se ajustó el pH cada 30 min, se centrifugó a 10000 rpm 4°C/30 min, y se determinó la proteína soluble en el sobrenadante por Lowry-SDS.

En la Figura 6 y Tabla 21 se presenta el Perfil de Solubilidad de la proteína de harina de ajonjolí en función del pH. Se observó que cerca de un 10% de la proteína total se solubilizó a valores de pH ácidos y neutro. Se consiguió un incremento en la solubilidad a partir de pH 8 y se alcanzó cerca de 100% aproximadamente a pH 11.

Los resultados obtenidos indicaron que la cantidad de proteína de harina de ajonjolí que se puede solubilizar en sistemas alimenticios es baja, ya que el intervalo de pH en que se sitúa la mayoría de ellos está entre 4 y 7. Además de que durante su elaboración no siempre conviene variar otras condiciones que podrían incrementar la solubilización como serían la temperatura y fuerza iónica ya que podría producirse pérdida del valor nutricional en el primer caso, y cambio de gusto salado en el segundo. De tal modo se observó que no es posible utilizar esta materia prima como fuente proteínica para la fortificación de bebidas, ya que la mayor parte de la harina permanecería sin solubilizarse. Sin embargo, se podría utilizar en algún otro alimento donde la solubilidad no sea un factor determinante en los atributos sensoriales del producto.

Por otra parte el perfil determinado concuerda con la aseveración encontrada en la literatura de que la máxima extracción de proteína obtenida anteriormente se consiguió a valores de pH superiores a 9⁷.

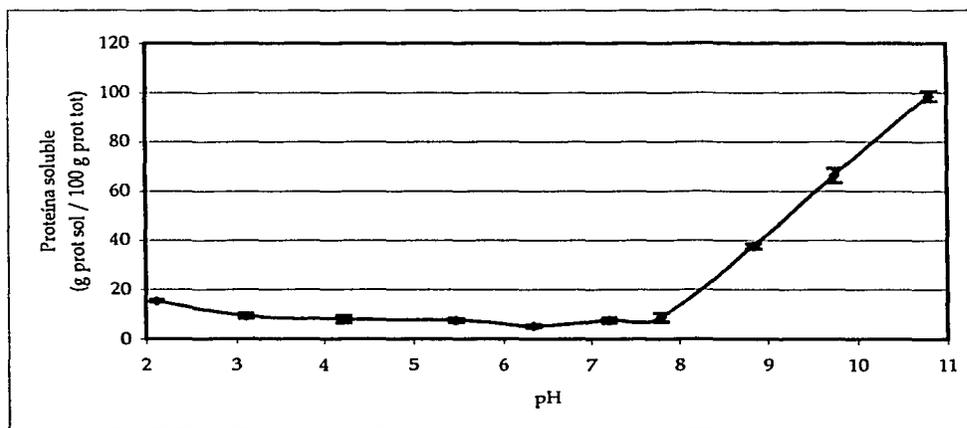


Figura 6. Perfil de solubilidad de la proteína de harina de ajonjolí. Determinación realizada por sextuplicado

Tabla 21. Perfil de solubilidad de la proteína de harina de ajonjolí

pH	Solubilización (g prot soluble/100g prot total)	s
2.13	15.28	0.48
3.11	9.24	1.00
4.22	7.89	1.46
5.50	7.45	0.83
6.35	5.23	0.58
7.20	7.45	1.06
7.80	8.66	1.67
8.85	37.53	1.02
9.74	66.08	2.92
10.80	98.46	2.05

Determinación realizada por sextuplicado.

7.5.2 Capacidad de Retención de Agua

La capacidad de retención de agua de la harina de ajonjolí se midió por triplicado, de acuerdo con el método de Quinn y Paton¹⁰, preparando pastas con 3 g de harina y volúmenes conocidos de agua destilada, que fueron sometidas a centrifugación (2000 Xg/T ambiente/10 min). El valor promedio determinado fue de:

$232 \pm 1.73 \text{ mL}_{\text{agua}}/100 \text{ g}_{\text{harina}}$.

De acuerdo al resultado la harina de ajonjolí por sí misma puede retener una cantidad de agua de más de dos veces su peso, es decir, al adicionar dicho líquido y formar una pasta es posible triplicar el peso de la materia prima sin que se presente una separación de agua.

De acuerdo con evaluaciones hechas anteriormente en el grupo de trabajo la capacidad de retención de agua de un aislado proteínico comercial de soya y de uno de ajonjolí, fue de 600% y 25 - 30% respectivamente⁷⁴. Con respecto a esta propiedad funcional, la harina de ajonjolí se encuentra en desventaja comparada con dicho aislado de soya y a su vez aventaja de manera importante al aislado de ajonjolí evidenciando así la contribución de los carbohidratos y proteínas que están presentes en la harina y de los cuales sólo una fracción se conserva en el aislado.

Como ya se había mencionado anteriormente (ver Tabla 1), la absorción y retención de agua son propiedades funcionales importantes para productos cárnicos, embutidos y productos de panificación.

7.5.3 Humectabilidad

La humectabilidad de la harina de ajonjolí se determinó por triplicado según el método propuesto por Balmaceda *et al*¹². De acuerdo con la Tabla 2 se evaluó como: **buena**, ya que al hacer contacto con el agua se humedeció ligeramente y tras media hora de reposo una parte se hallaba dispersa, otra sedimentada y

una última flotaba, sin presentar grumos. Posteriormente al agitar se dispersó la muestra aunque una fracción volvió a sedimentar al parar la agitación.

De acuerdo con este resultado, se puede aplicar la harina de ajonjolí para la elaboración, por ejemplo, de pastas sin el riesgo de que se formen grumos. Por otra parte, al notar la sedimentación de una fracción de las partículas al cesar la agitación, se manifestó nuevamente la inconveniencia de adicionar la harina a bebidas.

La evaluación de ésta propiedad en los aislados de soya y ajonjolí a los cuales se hizo referencia en la sección anterior, indicó que el primero posee una mala humectabilidad y el segundo una buena, al igual que la harina de la cual proviene ⁷⁴.

7.5.4 Capacidad de Retención de Aceite

La capacidad de retención de aceite de la harina de ajonjolí se midió por triplicado de acuerdo con el método de Lin y Humbert⁵⁵, preparando pastas con 3 g de harina y volúmenes conocidos de aceite, que fueron sometidas a centrifugación (2000 Xg/T ambiente/10 min). El valor promedio determinado por las pastas que mostraron separación de fases y las inmediatas anteriores que no lo hicieron fue de:

$$82 \pm 0.00 \text{ mL}_{\text{aceite}}/100 \text{ g}_{\text{harina}}$$

Este resultado es trascendente ya que como se mencionó anteriormente (ver sección 3.1.2) la retención de aceite influye tanto en la palatabilidad como en la retención de sabores, es decir, determina las características sensoriales de los alimentos, por lo que al contar con una materia prima que retiene una cantidad considerable de lípidos se puede esperar la obtención de un producto con textura y sabor agradables.

Comparando la capacidad de retención de aceite de la harina con los valores de los aislados ya mencionados, ésta representó el 63% y 144% del de soya y ajonjolí, respectivamente ⁷⁴.

Como ya se había mencionado anteriormente (ver Tabla 1), la absorción de lípidos es una propiedad funcional importante para productos cárnicos e imitaciones, embutidos y productos de panificación, especialmente donas.

7.5.5 Propiedades de Emulsificación

7.5.5.1 Índice de Actividad Emulsificante (IAE)

Se diluyeron alícuotas de 200 μL de cada emulsión para obtener un volumen final de 50 mL con disolución SDS 0.1%-NaCl 0.1M, determinando la densidad óptica a 500 nm. En la Figura 7 y Tabla 22 se representa con líneas discontinuas la turbiedad (T) determinada tras diluir las emulsiones producidas con distintas suspensiones de proteína de harina de ajonjolí a pH 4 y pH 7, y con líneas continuas el IAE calculado a partir de la turbiedad. Se observó que la primera se incrementó al aumentar la proteína en suspensión, lo cual se esperaba dado que este parámetro es proporcional al área interfacial estabilizada como se indicó en la sección 6.2.6.5.1. El IAE por su parte presentó una tendencia decreciente, ya que se

calculó mediante el cociente de la turbiedad entre la cantidad de proteína en suspensión. Los valores de IAE indican que una cantidad menor de proteína funciona más eficientemente en el recubrimiento de un glóbulo de aceite. Cantidades mayores de proteína favorecen una mayor formación de emulsión, medida como turbiedad, sin embargo, representa una menor área cubierta por gramo de proteína utilizada. En cuanto a las dos condiciones de pH que se manejaron, se observó claramente que la harina de ajonjolí estabilizó un área interfacial mayor a pH 7 que a pH 4, lo cual sugirió que su desempeño como tensoactivo en emulsiones cuyo pH sea neutro será mejor que en productos ácidos. Por otra parte de acuerdo con los datos observados en el perfil de solubilidad, a los dos valores de pH estudiados el porcentaje de proteína que se encuentra soluble es muy bajo y aproximadamente igual, sin embargo, la capacidad emulsificante es aproximadamente el doble a pH 7. La formación de emulsiones a estos niveles demuestra, como se había mencionado anteriormente (ver sección 3.1.3), que la solubilidad no es un requisito absoluto para tener una buena capacidad emulsificante. De hecho, esto se ha observado también con proteína de soya y con caseinato de sodio, alcanzando con éste último un IAE de $149 \text{ m}^2/\text{g}$ a pH 6.5, cabe hacer notar que el punto isoeléctrico de la caseína es aproximadamente 6.0^{56,75,76}.

Resulta poco probable pensar que la formación de la película en la interfase se debiera principalmente a la participación de agentes tensoactivos de bajo peso molecular presentes en la harina de ajonjolí, ya que si bien es cierto que éstos pueden desplazar a las proteínas adsorbidas cuando son agregados tras la formación de la emulsión, también se sabe que cuando están presentes antes de que tenga lugar la emulsificación sólo ocurre un desplazamiento parcial¹³.

Con respecto a las determinaciones hechas en el aislado de soya que se ha mencionado ya, se observó que también presentó un mayor IAE a pH 7 que a 4, obteniendo en el primer caso un valor de aprox. $53 \text{ m}^2/\text{g}$ con 0.1% de proteína en suspensión y cerca de $8 \text{ m}^2/\text{g}$ con 5% de proteína, siendo por tanto similar al patrón mostrado por la harina de ajonjolí. Por su parte, el aislado de ajonjolí se desempeñó mejor a pH 4 sobre todo a 5% en que su IAE fue de $375\text{-}380 \text{ m}^2/\text{g}$, mientras que con la misma proteína en suspensión pero a pH 7 fue de $130\text{-}135 \text{ m}^2/\text{g}$, siendo notable que a ambas condiciones de pH superó a la harina de ajonjolí debido probablemente a una mayor solubilidad de la proteína del aislado⁷⁴.

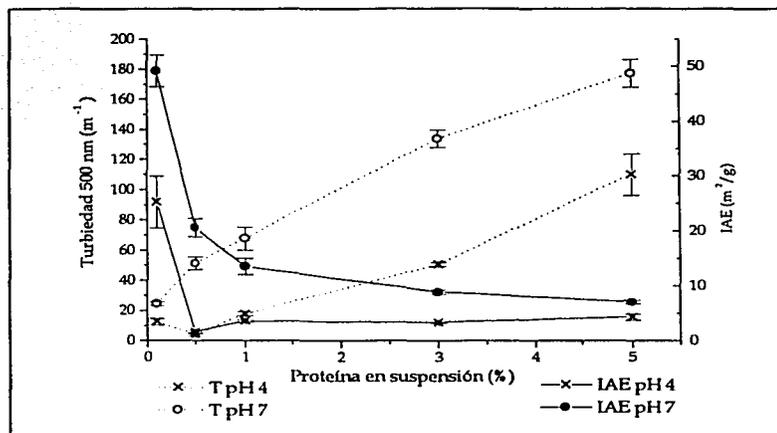


Figura 7. Índice de Actividad Emulsificante (IAE) y Turbiedad (T) de distintas suspensiones proteína de harina de ajonjolí a pH 4 y pH 7. Promedio de 12 réplicas

Tabla 22. Índice de Actividad Emulsificante (IAE) y Turbiedad (T) de distintas suspensiones de proteína de harina de ajonjolí a pH 4 y pH 7

Proteína (%)	pH 4				pH 7			
	T (m ⁻¹)	s	IAE (m ² /g)	s	T (m ⁻¹)	s	IAE (m ² /g)	s
0.1	12.62	2.36	25.23	4.71	24.62	1.45	49.24	2.89
0.5	4.05	0.85	1.62	0.34	51.61	4.25	20.64	1.70
1.0	18.04	1.05	3.61	0.21	68.02	7.49	13.60	1.50
3.0	50.80	1.39	3.39	0.09	133.96	5.76	8.93	0.38
5.0	110.06	13.90	4.40	0.56	177.38	9.29	7.10	0.37

Promedio de 12 réplicas.

7.5.5.2 Estabilidad de la Emulsión

Se vertieron porciones de 12 mL de cada emulsión en tubos cónicos graduados que se centrifugaron (3000 rpm/T ambiente/10 min). La estabilidad de la emulsión se calculó como el porcentaje del aceite coalescido con respecto a la cuarta parte del volumen total de líquido en cada tubo. En la Figura 8 y

Tabla 23 se representa la estabilidad de la emulsión como el aceite coalescido con respecto a diferentes valores de proteína de la harina de ajonjolí en suspensión a pH 4 y pH 7. Tras la aplicación de una fuerza centrífuga las emulsiones inestables presentaron un mayor volumen de aceite separado. Se observó que la estabilidad de las emulsiones a pH 7 fue prácticamente total con excepción de la suspensión con 0.1% de proteína, mientras que a pH 4 hubo separación de aceite en las suspensiones con 0.1 -1 % de proteína. Cabe señalar que los niveles de aceite coalescido superiores al 100% se debieron a que dicha fase extrajo consigo parte de otros componentes presentes en la suspensión de harina con la cual se formó la emulsión, entre ellos probablemente lípidos e incluso agua formando a su vez una emulsión tipo W/O. Como se había discutido en la sección 3.1.3, existen tres procesos mediante los cuales una emulsión se puede desestabilizar, que son el desnatado, la floculación y la coalescencia. Aunque los tres están interrelacionados, los factores que retardan su aparición son distintos. Dado que la harina de ajonjolí es un sistema complejo, es posible que se haya presentado una combinación de ellos. Por ejemplo la estabilidad contra el desnatado, pudo haber sido favorecida por la viscosidad de la fase continua incrementada por hidrocoloides presentes en la harina, mientras que la estabilidad contra la coalescencia y floculación se pudo originar por repulsiones estéricas y electrostáticas entre los segmentos de las proteínas que sobresalen de la película interfacial. En cuanto a la diferencia entre la capacidad de las suspensiones a pH 4 y pH 7 para estabilizar la emulsión, es posible que se haya debido a la adsorción de proteínas diferentes en la interfase, ya que se sabe que la selectividad depende del pH¹³.

El resultado obtenido demostró que se puede utilizar la harina de ajonjolí como un agente emulsificante a pH 7, ya que la emulsión del producto sería no sólo más eficiente que a pH 4 como lo indicó el IAE, sino que además sería estable a niveles más bajos de proteína y por tanto de harina. Como ya se había mencionado anteriormente (ver Tabla 1), esta propiedad es de importancia en productos como embutidos, sopas y pasteles, además de aderezos y salsas.

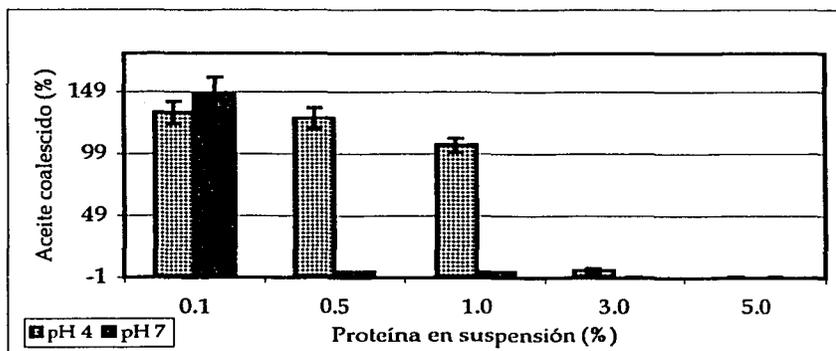


Figura 8. Estabilidad de las Emulsiones formadas con distintas suspensiones de proteína de harina de ajonjolí a pH 4 y pH 7. Promedio de 8 réplicas

Tabla 23. Estabilidad de las emulsiones formadas con distintas cantidades de proteína de harina de ajonjolí a pH 4 y pH 7

Proteína (%)	pH 4		pH 7	
	Aceite coalescido (%)	s	Aceite coalescido (%)	s
0.1	132.31	8.85	147.53	12.77
0.5	127.73	8.44	3.56	0.16
1.0	106.02	5.59	3.59	0.10
3.0	4.80	1.82	0.00	0.00
5.0	0.00	0.00	0.00	0.00

Promedio de 8 réplicas

7.5.6 Propiedades de Espumado

7.5.6.1 Capacidad de Espumado

La capacidad de espumado mostrada en la Figura 9 y Tabla 24 se representó como el volumen de incremento en función de la proteína de harina de ajonjolí en suspensión a pH 4 y pH 7. En las dos condiciones de pH se observó una tendencia parecida, aumentando el volumen de incremento conforme a la proteína en suspensión, alcanzando un máximo de aprox. 80 y 100% a pH 4 y pH 7 respectivamente en espumas formadas con suspensiones que contenían 1.0% de proteína. Se verificó un menor volumen de incremento con las espumas formadas a partir de suspensiones al 5%. Esta tendencia inicialmente creciente se explica debido a que la concentración de proteína en la interfase está directamente relacionada con la concentración en el seno de la suspensión¹³ dentro de cierto intervalo más allá del cual, se ha sugerido que se observa una barrera energética producida una vez que algunas proteínas han sido adsorbidas, lo que ocasiona que para continuar con la adsorción de nuevas moléculas se necesite invertir cierta energía para desocupar un área en la interfase, lo que podría explicar la menor capacidad de espumado observada en suspensiones con 5 % de proteína.

De acuerdo con el volumen de incremento máximo obtenido se observó que las suspensiones a pH 7 de harina de ajonjolí que contienen 1% de proteína tienen la capacidad de formar espumas que duplican el volumen de las suspensiones con que se producen.

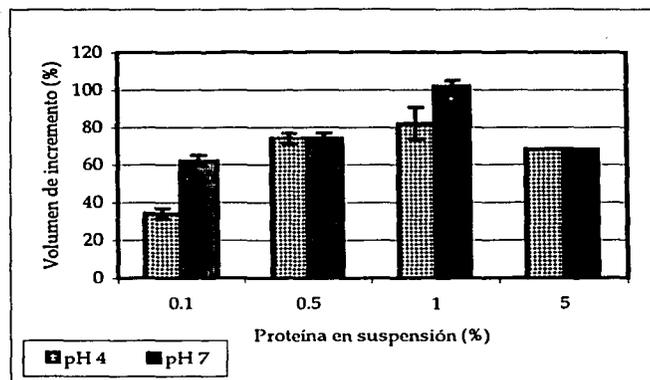


Figura 9. Capacidad de Espumado de distintas suspensiones de proteína de harina de harina de ajonjolí a pH 4 y pH 7. Determinación hecha por duplicado

Tabla 24. Capacidad de espumado de distintas suspensiones de proteína de harina de harina de ajonjolí a pH 4 y pH 7

Proteína (%)	pH 4		pH 7	
	Volumen de incremento (%)	s	Volumen de incremento (%)	s
0.1	34	2.83	62	2.83
0.5	74	2.83	74	2.83
1.0	82	8.49	102	2.83
5.0	68	0.00	68	0.00

Determinación hecha por duplicado.

7.5.6.2 Estabilidad de la Espuma

En la Figura 10 y Tabla 25 la estabilidad de la espuma formada con diferentes suspensiones de proteína de harina de ajonjolí se representó registrando el volumen total del sistema con respecto al tiempo y a dos condiciones de pH. Se observó que el volumen total de los sistemas a pH 4 disminuyó a medida que el tiempo iba transcurriendo, de modo instantáneo en la espuma formada con suspensión de 0.1% de proteína, tras un minuto en las de 0.5 y 1.0% de proteína, y después de 30 min en la de 5% de proteína siendo ésta la única que conservó un volumen superior a 55 mL a los 120 min. Por su parte a pH 7, la disminución de volumen se retrasó por un tiempo mayor y fue en general menos drástica conservando un volumen por encima de 55 mL en todos los casos al transcurrir 120 min, aunque en ésta ocasión fue la espuma de 1% de proteína la que presentó el mayor volumen (70 mL). Cabe destacar de que los comportamientos de las espumas formadas con suspensiones de 5% de proteína fueron muy parecidos en

ambas condiciones de pH, observando en ambas una gran cantidad de sólidos sedimentados y de hecho la retención de algunas partículas sólidas en las películas interfaciales.

La relativamente baja estabilidad de las espumas formadas pudo deberse ya sea a un desplazamiento de las proteínas adsorbidas en la interfase por parte de tensoactivos de bajo peso molecular que pudieron estar presentes en la harina, a una baja interacción entre proteínas localizadas en el área interfacial o a una alta flexibilidad de éstas moléculas que en respuesta a un estiramiento de la película manifiestan un cambio configuracional rápido previniendo el desarrollo de un gradiente de presión que podría restaurar la estabilidad de la espuma al atraer hacia esta zona una capa de proteínas proveniente de una región de baja tensión superficial adyacente¹³. Cualquiera de estos tres mecanismos pudo favorecer drenado de la película interfacial que como se mencionó en la sección 3.1.4 es una de las principales causas de inestabilidad de las espumas.

Por otro lado, la mayor estabilidad observada en las espumas formadas a partir de suspensiones con 5 % de proteína, probablemente se debió a un incremento en la viscosidad de la fase continua por parte de los otros componentes presentes en la harina de ajonjolí.

Con base en los resultados obtenidos se determinó que tanto a pH 4 como a pH 7 se puede obtener una espuma que permanezca estable a temperatura ambiente y en reposo por 30 minutos utilizando suspensiones con 5% de proteína de harina de ajonjolí, aunque a pH 7 se puede mantener estable una espuma con 1% de proteína por el mismo periodo pero con un volumen mayor. Esta propiedad funcional es importante para distintos alimentos, tales como productos de panificación, merengues y helados.

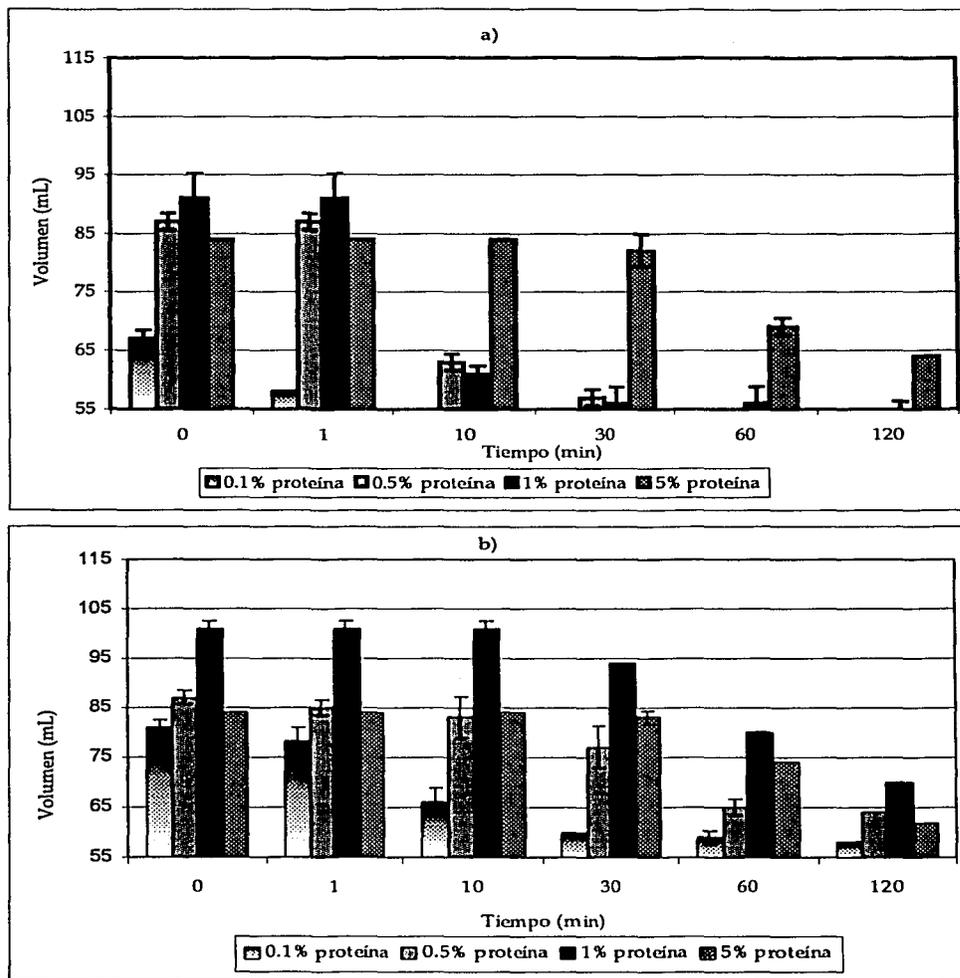


Figura 10. Estabilidad de las Espumas formadas con distintas suspensiones de harina de ajonjolí: a) pH 4, b) pH 7. Determinaciones hechas por duplicado.

Tabla 25. Estabilidad de las Espumas formadas con distintas suspensiones de harina de ajonjolí a pH 4y pH 7

Proteína (%)	pH 4							
	0.1		0.5		1.0		5.0	
Tiempo (min)	Volumen (mL)	s						
0	67	1.41	87	1.41	91	4.24	84	0.00
1	58	0	87	1.41	91	4.24	84	0.00
10	50	0	63	1.41	61	1.41	84	0.00
30	50	0	57	1.41	56	2.83	82	2.83
60	50	0	54	0.00	56	2.83	69	1.41
120	50	0	54	0.00	55	1.41	64	0.00

Proteína (%)	pH 7							
	0.1		0.5		1.0		5.0	
Tiempo (min)	Volumen (mL)	s						
0	81	1.41	87	1.41	101	1.41	84	0.00
1	78	2.83	85	1.41	101	1.41	84	0.00
10	66	2.83	83	4.24	101	1.41	84	0.00
30	60	0.00	77	4.24	94	0.00	83	1.41
60	59	1.41	65	1.41	80	0.00	74	0.00
120	58	0.00	64	0.00	70	0.00	62	0.00

Determinaciones hechas por duplicado.

8 PROPUESTA DE APLICACIÓN Y RECOMENDACIONES

Los resultados de las propiedades funcionales evaluadas con la harina de ajonjolí revelaron que posee un alto potencial para su aplicación en distintos sistemas alimenticios, destacando tres propiedades en particular: la **capacidad de retención de agua**, la **humectabilidad** y las **propiedades de emulsificación**.

Un producto alimenticio en el que las dos primeras juegan un papel importante durante su proceso de producción son las pastas para sopa, las cuales consisten básicamente en mezclas ya sea de harina de trigo duro, de harina de trigo cristalino o de semolina y agua, pudiendo ser añadidos otros ingredientes⁷⁷. La primera etapa en la fabricación de este tipo de productos es el mezclado, donde se añade un volumen de agua caliente adecuado para obtener una cierta humedad en la masa, en que gracias a su **capacidad de retención de agua** la harina de ajonjolí puede desempeñar un papel sobresaliente. Durante el amasado lo que se busca es obtener una distribución homogénea del agua, por lo que resulta indicado contar con un ingrediente que se humedezca con facilidad y no forme grumos, características con las que la harina de ajonjolí puede cumplir gracias a su buena **humectabilidad**.

No obstante, es necesario el empleo de técnicas para evaluar el comportamiento reológico de masas así formadas para determinar si es posible utilizar la harina de ajonjolí como tal o una mezcla con semolina u otros ingredientes en la producción de pastas de buena calidad y para optimizar su uso.

En cuanto al valor nutricional que la harina de ajonjolí aportaría a éste producto, con base en los resultados obtenidos durante su evaluación, se puede afirmar que contribuiría con una cantidad considerable de proteína cuyo patrón de aminoácidos, a pesar de ser limitante en lisina con respecto al patrón sugerido por la FAO/WHO/UNU², cubre los requerimientos de los adultos². Además muestra un alto contenido de otros aminoácidos indispensables, entre los que destacan los azufrados, contando además con una alta biodisponibilidad. Por tanto es recomendable analizar distintas alternativas para su complementación con otros alimentos ricos en lisina en caso de que se quiera dirigir el producto a la población en general y para lograr un óptimo aprovechamiento.

Por otro lado, el contenido de selenio en la harina de ajonjolí la coloca como una fuente importante de este mineral cuya ingesta es vital para el mantenimiento de la salud dadas las múltiples funciones que desempeña dentro de numerosos sistemas metabólicos.

Con respecto al contenido de fibra dietaria determinado en la harina de ajonjolí, el consumo de un producto en que se añada este ingrediente contribuiría significativamente con la ingesta diaria recomendada del nutrimento. Entre los beneficios fisiológicos generados por la fibra dietaria, uno de gran relevancia es el efecto laxativo que favorece el tratamiento de la constipación. Cabe hacer notar que además una alta ingesta de fibra en combinación con una dieta baja en lípidos, especialmente saturados y colesterol, se ha asociado con la disminución en el riesgo de padecer ciertos tipos de cáncer y de enfermedades del corazón⁶⁰.

En lo referente a la demanda que el producto propuesto tendría se puede esperar que sea grande, ya que de acuerdo con lo publicado por Morales de León, *et al*⁷⁸, encuestas realizadas por el Instituto Nacional de Nutrición mostraron que las pastas forman parte importante de la dieta de la población de nuestro país, razón por la cual se incrementa el compromiso de desarrollar un producto con óptima calidad. En particular podría ser dirigido ya sea a los sectores marginado y proletario de la población, para quienes las pastas para sopa son básicas en su alimentación¹.

Otro sector que se vería beneficiado con un producto como el que se propone es el de las personas de la Tercera Edad, quienes constituyen un grupo con requerimientos nutricionales específicos que para ser satisfechos requieren de alimentos especialmente diseñados y para quienes en la actualidad existen pocos productos en el mercado. De acuerdo con datos del INEGI⁷⁹, en México la población de éste grupo ascendió a cerca de 7 millones de personas en el año 2000 y se espera un crecimiento importante durante las próximas décadas. Los requerimientos energéticos de estas personas son menores que los de los adultos, sin embargo, dado que la anorexia es un padecimiento común entre ellos, conlleva un estado de desnutrición calórico-proteínica, que podría verse subsanado en particular con un producto a base de harina de ajonjolí. Si bien es cierto que esta harina no cubre los requerimientos de lisina para niños preescolares, el de adultos para dicho aminoácido indispensable es menor y se ve totalmente cubierto por esta fuente proteínica. Adicionalmente, su contenido de fibra dietaria podría contribuir al tratamiento de la constipación, padecimiento también frecuente en estas personas.

Un aspecto crítico que se debe atender es la detección del origen del cadmio ya que el análisis de dicho metal informó resultados graves que provocarían un efecto nocivo para la salud si no se elimina su fuente de contaminación. Así como también la instrumentación de algún método que asegure la eliminación de éste en la harina de ajonjolí.

En lo concerniente al contenido de ácido fítico determinado, resulta necesario identificar cual alternativa es la más adecuada para evitar que éste factor antinutricional produzca una deficiencia de minerales, sobre todo si se pretende recomendar la ingesta frecuente del producto.

9 CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos revelaron la potencialidad de la harina de ajonjolí como materia prima para la elaboración de productos alimenticios destinados al consumo humano. Con ello se contribuye a la investigación que en la actualidad se realiza en torno a la búsqueda de nuevas fuentes de alimento, cuyo fin es la satisfacción de los requerimientos nutricionales de las poblaciones principalmente de países en vías de desarrollo.

Desde el punto de vista bromatológico, se encontró una composición particularmente interesante por el contenido de proteína (41.6%), cuya calidad, tras la evaluación nutricional, resultó significativamente alta ($CQ \times DV = 60.31\%$) y que constituye un indicador de la eficiencia de la harina de ajonjolí como fuente de aminoácidos indispensables para el hombre, por lo que contribuiría con su desarrollo y/o con el mantenimiento de su salud. Adicionalmente se determinó un nivel considerable de otro nutrimento que recientemente ha sido asociado con una multitud de efectos fisiológicos benéficos para el organismo y por tanto, con la disminución del riesgo del padecimiento de distintas enfermedades, tales como algunos tipos de cáncer y de enfermedades del corazón, la fibra dietaria (8.49%). Así mismo se evidenció un contenido importante de selenio (0.32 mg/kg), elemento indispensable cuya función antioxidante y participación dentro de distintos sistemas enzimáticos ha sido también reconocida.

Dentro de la caracterización nutricional, otro aspecto consistió en la confrontación de los métodos para la evaluación de la calidad proteínica, lo que permitió establecer que la Cuenta Química corregida con Digestibilidad Verdadera informa la información más apegada a los requerimientos humanos, lo cual aunado a las ventajas operacionales de dicho método, lo colocan como el más indicado para el estudio de nuevas fuentes proteínicas. La evaluación de la calidad microbiológica de la harina de ajonjolí arrojó resultados positivos de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana vigente para alimentos a base de semillas comestibles, demostrando en conjunto con la parte bromatológica y nutricional de la caracterización, la factibilidad de su uso para productos destinados al consumo humano.

En cuanto a su inocuidad con respecto a factores antinutricionales y metales pesados, se detectó la presencia de niveles considerables de ácido fítico y cadmio (6.2% y 0.23 mg/kg, respectivamente) y se recomendó la implementación de medidas para su eliminación, ya que el primero es un compuesto que altera la biodisponibilidad de iones metálicos, mientras que el segundo es un metal pesado que produce efectos tóxicos que afectan principalmente al riñón. Por último pero no por ello menos importante, la evaluación funcional de este material demostró la factibilidad tecnológica del uso de la harina de ajonjolí para la fabricación de productos alimenticios, ya que presentó tanto propiedades emulsificantes notables como una buena capacidad de retención de agua y humectabilidad. Con base en ello se propuso su

aplicación como ingrediente en pasta para sopa ya que durante su proceso de elaboración se efectúan distintas operaciones donde se requiere tanto la incorporación como la distribución homogénea de agua. Desde un punto de vista económico, este tipo de productos cuentan con una amplia demanda en el mercado, ya que son incluidos de manera frecuente en la dieta de la población de nuestro país, y de hecho podrían ser dirigidos ya sea al sector marginado y/o al grupo de la Tercera Edad, para quienes reportaría diversos beneficios nutricionales y fisiológicos.

10 ANEXOS

10.1 ANEXO I

DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA SOLUBLE POR EL MÉTODO DE LOWRY *et al.* MODIFICADO POR PETERSON⁵⁴

A Reactivos

Disolución CTC (carbonato de sodio, tartrato de potasio, sulfato de cobre pentahidratado). Se prepara para obtener una concentración final de 10 % Na_2CO_3 , 0.1 % $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 0.2 % tartrato de potasio.

Disolución SDS (dodecil sulfato de sodio) 10 %.

Disolución NaOH 0.8 N.

Disolución A. Se prepara mezclando volúmenes iguales de las siguientes disoluciones y en el orden: CTC, NaOH 0.8 N, y SDS 10 %. Se prepara antes de desarrollar la determinación.

Disolución B. Dilución 1:6 del Reactivo Folin-Ciocalteu- fenol (Hycel de México). Se prepara antes de desarrollar la determinación.

Albumina sérica bovina (BSA, marca Sigma) 0.1 mg/mL. Se prepara diluyendo una disolución de BSA 1 mg/mL antes de iniciar la determinación.

B Procedimiento

Curva patrón.

Se prepara por triplicado una serie de tubos en los que se agregan distintas alícuotas de la disolución de BSA 0.1 mg/mL sobre volúmenes de agua necesarios para alcanzar un volumen final de 1 mL en cada tubo, como se muestra en la Tabla 26.

Tabla 26. Construcción de la Curva Patrón de BSA para la determinación de proteína soluble.

Tubo	Volumen H_2O (mL)	Alícuota BSA 0.1 mg/mL (mL)	[BSA] final ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
1	1.0	0.0	0.0
2	0.9	0.1	10
3	0.8	0.2	20
4	0.7	0.3	30
5	0.6	0.4	40
6	0.5	0.5	50
7	0.4	0.6	60
8	0.3	0.7	70
9	0.2	0.8	80
10	0.1	0.9	90
11	0.0	1.0	100

Ensayo.

Se mide por triplicado un volumen de 1 mL de la muestra a analizar, previamente diluída de modo que el valor de su absorbancia tras el desarrollo de la coloración se encuentre dentro del intervalo de la curva patrón. Se adiciona con agitación simultánea (vortex) 1 mL de la disolución A, y se deja reposar 10 min a temperatura ambiente. Transcurrido ese lapso se adiciona 0.5 mL de la disolución B y se deja que reaccione para desarrollar el color durante 30 min, al término de los cuales se determina la absorbancia a 750 nm, siendo estable el producto de la reacción hasta 120 min después del inicio de ésta.

10.2ANEXO II

Tabla 27. Formulación de las dietas con harina de ajonjolí y caseína como fuentes de proteína y la dieta libre de nitrógeno administradas a las ratas para llevar a cabo los bioensayos de PER y NPR.

	Harina de ajonjolí (g)	Caseína (g)	Libre de Nitrógeno (g)
Fuente proteínica	520.6	358.2	0.0
Aceite de maíz	228.5	234.6	160.0
Mezcla de minerales	112.0	142.1	100.0
Mezcla de vitaminas	30.0	30.0	20.0
Celulosa	0.0	21.6	20.0
Agua	125.3	114.2	100.0
Almidón	1983.5	2099.3	1600.0
Total	3000.0	3000.0	2000.0

Tabla 28. Formulación de las dietas con harina de ajonjolí y caseína como fuentes de proteína y la dieta libre de nitrógeno administradas a las ratas para llevar a cabo los bioensayos de DA y DV.

	Harina de ajonjolí (g)	Caseína (g)	Libre de Nitrógeno (g)
Fuente proteínica	173.5	119.4	0
Aceite de maíz	96.2	98.2	100.0
Mezcla de minerales	35.0	35.0	35.0
Mezcla de vitaminas	20.0	20.0	20.0
Celulosa	39.8	47.2	50.0
Almidón	635.5	680.2	795.0
Total	1000.0	1000.0	1000.0

10.3 ANEXO III

NOMENCLATURA

Abreviatura	Nombre	Unidades
A	alimento consumido durante el tiempo de ensayo	g
aa _a	cantidad de aminoácido indispensable en ajonjolí	mg _{aa} /g _{proteína}
aa _p	cantidad de aminoácido indispensable en patrón de referencia	mg _{aa} /g _{proteína}
Abs ₇₅₀	absorbancia a 750 nm del sobrenadante diluido	adimensional
A _n	alimento neto consumido durante el periodo de balance	g
b	ordenada al origen (curva patrón de proteína soluble)	adimensional
C	concentración de la suspensión proteínica	g/m ³
CQ	Cuenta Química	%
CQ x DV	Cuenta Química corregida con Digestibilidad Verdadera	%
D	factor de dilución del sobrenadante	mL
d ₅₀₀	densidad óptica a 500 nm	adimensional
DA	Digestibilidad Aparente	%
Di	Digestibilidad <i>in vitro</i>	%
DV	Digestibilidad Verdadera	%
F	factor de conversión de nitrógeno a proteína	adimensional
H	peso de las heces durante el periodo de balance	g
IV	incremento de volumen	%
IAE	Índice de Actividad Emulsificante	m ² /g
l	longitud de la celda	m
m	pendiente (curva patrón de proteína soluble)	mL/μg
m _h	peso de ajonjolí	g
N	contenido de nitrógeno de la dieta	%
N _f	nitrógeno fecal	g
N _h	contenido de nitrógeno de las heces	%
N _i	nitrógeno ingerido	g
N _m	nitrógeno fecal de las ratas con dieta metabólica	g
NPR	Relación Neta de la Proteína	adimensional
NPR exp _c	valor de NPR experimental de la caseína	adimensional
NPR exp _h	valor de NPR experimental de la harina de ajonjolí	adimensional
[p]	concentración de proteína soluble diluida	μg/mL

Abreviatura	Nombre	Unidades
ΔP	ganancia en peso de cada rata durante el tiempo de ensayo	g
$\overline{\Delta P_m}$	pérdida de peso promedio de las ratas con dieta metabólica	g
PER	Relación de la Eficiencia de la Proteína	adimensional
PER _{exp_c}	valor de PER experimental de la caseína	adimensional
PER _{exp_h}	valor de PER experimental de la harina de ajonjolí	adimensional
pH ₁₀	pH determinado tras 10 min de la inoculación enzimática	adimensional
R-NPR	NPR Relativo	%
R-PER	PER Relativo	%
T	turbiedad	m ⁻¹
V _{ac}	volumen de aceite añadido	mL
V _{ag}	volumen de agua añadido	mL
V _c	volumen de aceite coalescido	mL
V _p	volumen de la suspensión proteínica	mL
V _s	volumen total del sistema	mL
V _t	volumen total de líquido en cada tubo	mL
Φ	fracción volumétrica de la fase dispersa en la emulsión	adimensional

11 REFERENCIAS

- ¹ Bourges, H. (2000) Modernización de la dieta mexicana. Memorias del Segundo Foro Nacional sobre Seguridad y Soberanía Alimentaria. Auspiciado por Academia Mexicana de Ciencias, Consejo Consultivo de Ciencias, SEP-CONACYT, CICY y CIAD. ISBN 968-7428-11-2, págs. 3-21.
- ² FAO/WHO/UNU (1985) Energy and Protein Requirements. Report of a Joint FAO/WHO/UNU Expert consultation. World Health Organization Technical Report Series 724. WHO, Geneva, Switzerland, págs. 121-123.
- ³ Kanny, G., De Hauteclocque, C. y Moneret-Vautrin, D. A. (1996) Sesame Seed and Sesame Seed Oil Contain Masked Allergens of Growing Importance. *Allergy* 51(12):952.
- ⁴ Chandra, R. K. y Hamed, A. (1991) Cumulative Incidence of Atopic Disorders in High Risk Infants Fed Whey Hydrolysate, Soy, and Conventional Cow Milk Formulas. *Ann Allergy* 67(2 Pt 1):129.
- ⁵ Chestel, J. C., Cuq, J.-L. y Lorient, D. (1996) Aminoácidos, Péptidos y Proteínas, en *Química de los Alimentos* (ed. O. Fennema). Edit. Acribia, Zaragoza, págs. 315-373.
- ⁶ Damodaran, S. (1997) Food Proteins: An Overview, en *Food Proteins and their Applications* (eds. S. Damodaran y A. Paraf). Marcel Dekker Inc. N. Y., págs. 1-24.
- ⁷ Zayas, J. F. (1997) *Functionality of Proteins in Food*. Springer, Berlin, págs. 1-9, 63, 76-81, 134-153, 211, 228-230, 260-274.
- ⁸ Pomeranz, Y. (1991) *Functional Properties of Food Components*. 2a ed., Academic Press, Inc., California, págs. 149-164.
- ⁹ Popineau, Y., Bollecker, S. y Thebaudin, J. (1988) Caractérisation Biochimique et Fonctionnelle des Protéines de Gluten Désamidées Partiellement en Conditions Ménagées. *Sciences des Aliments* 8(4):411.
- ¹⁰ Quinn, J. R. y Paton, D. (1979) A Practical Measurement of Water Hydration Capacity of Protein Materials. *Cereal Chemistry*. 56(1):38.
- ¹¹ Barbut, S. (1996) Determining Water and Fat Holding, en *Methods of Testing Protein Functionality* (ed. G. M. Hall). Blackie Academic and Professional. London, págs. 186-220.
- ¹² Balmaceda, E. A., Kim, M. K., Franzen, R., Mardones, B. y Lugay, J. C. (1984) Protein Functionality Methodology- Standard Tests, en *Food Protein Chemistry* (eds. J. M. Regenstein y O. E. Regenstein). Academic Press Inc. Orlando, pág. 290.
- ¹³ Damodaran, S. (1997) Protein Stabilized Foams and Emulsions, en *Food Proteins and their Applications* (eds. S. Damodaran y A. Paraf). Marcel Dekker Inc. N. Y., págs. 57-105.
- ¹⁴ Dürenberger, M. B., Handschin, S., Conde - Petit, B. y Escher, F. (2001). Visualization of Food Structure by Confocal Laser Scanning Microscopy (CLSM). *Lebensm.-Wiss. U.-Technol*, 34:11.
- ¹⁵ Hill, S. E. (1996) Emulsions, en *Methods of Testing Protein Functionality* (ed. G. M. Hall). Blackie Academic and Professional. London, págs. 173-182.
- ¹⁶ Wilde, P. J. y Clark, D. C. (1996) Foam Formation and Stability, en *Methods of Testing Protein Functionality* (ed. G. M. Hall). Blackie Academic and Professional. London, págs. 121-148.
- ¹⁷ Mataix, J. y Carazo, E. (1995) *Nutrición para Educadores*. Editores Díaz de Santos S. A., España págs. 2
- ¹⁸ Boutrif, E. (1999) Recent Developments in Protein Quality Evaluation. <http://www.fao.org/docrep/u5900t/u5900t07.htm>

- ¹⁹ Sarwar, G. y McDonough, F. E. (1990) Evaluation of Protein Digestibility-Corrected Amino Acid Score Method for Assessing Protein Quality of Foods. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 73(3):347
- ²⁰ PAG (WHO/FAO/UNICEF) (1963) Methodology of Protein Evaluation. A Critical Appraisal of Methods for Evaluation of Protein in Foods. Nutrition Document R.6/Add.1, compilado por J. A. Campbell, Reunión, Ginebra, Agosto.
- ²¹ Derse, P. H. (1960) Evaluation of Protein Quality (Biological Method). *Journal of the A. O. A. C.* 43:1.
- ²² AOAC (1990) Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 15ª ed. Virginia, págs. 342, 1095, 1096, 1105, 1106.
- ²³ Hackler, L. R., Bodwell, C. E., Happich, M. L., Phillips, J. G., Derse, P. H., Elliott, J. G., Hartnagel, Jr, R. E., Hopkins, D. T., Kapiszka, E. L., Mitchell, G. V., Parsons, G. F., Prescher, E. E., Robaidek, E. S. y Womack, M. (1984) Protein Efficiency Ratio: AACC/ASTM Collaborative Study. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 67(1):66.
- ²⁴ Happic, M. L., Bodwell, C. E., Hackler, L. R., Phillips, J. G., Derse, P. H., Elliott, J. G., Hartnagel, Jr, R. E., Hopkins, D. T., Kapiszka, E. L., Mitchell, G. V., Parsons, G. F., Prescher, E. E., Robaidek, E. S. y Womack, M. (1984) Net Protein Ratio Data: AACC-ASTM Collaborative Study. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 67(2):255.
- ²⁵ Sarwar, G. y McLaughlan, J. M. (1981) Relative Net Protein Ratio Method for Evaluating Protein Quality. *Nutrition Reports International.* 23(6):1157.
- ²⁶ Sarwar, G., Peace, R. W. y Botting, H. G. (1985) Corrected Relative Net Protein Ratio (CRNPR) Method Based on Differences in Rat and Human Requirements for Sulfur Amino Acids. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 68(4):689.
- ²⁷ McDonough, F. E., Steinke, F. H., Sarwar, G., Eggum, B. O., Bressani, R., Huth, P. J., Barbeau, W. E., Mitchell, G. V. y Phillips, J. G. (1990) In Vivo Rat Assay for True Protein Digestibility: Collaborative Study. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 73(5):801.
- ²⁸ AOAC (1995) Official Methods of Analysis of AOAC International, 16ª ed. Virginia, pág. 62.
- ²⁹ Bodwell, C. E., Carpenter, K. J. y McDonough, F. E. (1989) A Collaborative Study of Methods of Protein Evaluation: Introductory Paper. *Plant Foods for Human Nutrition*, 39:3.
- ³⁰ Eggum, B. O., Hansen, I. y Larsen, T. (1989) Protein Quality and Digestible Energy of Selected Foods Determined in Balance Trials with Rats. *Plant Foods for Human Nutrition*, 39:13.
- ³¹ Monro, J. A. (1996) Dietary Fiber, en *Handbook of Food Analysis*. Vol. 1 (ed. L. M. L. Nollet). Marcel Dekker, N. Y., págs. 1051-057.
- ³² Grigelmo-Miguel, N. y Martín-Belloso, O. (1999) Comparison of Dietary Fibre from By-Products of Processing Fruits and Greens and from Cereals. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.* 32:503.
- ³³ Asp, N.-G. y Johansson, C.-G. (1984) Dietary Fibre Análisis. *Nutrition Abstracts and Reviews in Clinical Nutrition.* 54(9):735.
- ³⁴ Rosado, J. L. (1989) Fibra Dietética: Definición, Propiedades Físicoquímicas y Fisiológicas, y sus Implicaciones en la Salud. Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán, Cd. de México, págs 1-21.
- ³⁵ Englyst, H. N., Hudson, G. J., Quigley, M. E. y Cummings, J. H. (1994). Dietary Fibre. Definition and Measurement. FDA Initiated Public Conference Dietary Fiber and Cancer and Coronary Heart Disease, Arlington, Virginia, págs. 8-10.

- ³⁶ Englyst, H. N., Quigley, M. E. Englyst, K. N., Bravo, L. y Hudson, G. J. (1995). Dietary Fibre. Measurement by the Englyst NSP Procedure. Measurement by the AOAC Procedure. Explanation of Differences. Report of a Study Commissioned by MAFF, Cambridge.
- ³⁷ Reddy, B. S., Hirose, Y., Cohen, L. A., Simi, B., Cooma, I. y Rao, C. V. (2000) Preventive Potential of Wheat Bran Fractions Against Experimental Colon Carcinogenesis: Implications for Human Colon Cancer Prevention. *Cancer Research*, 60:4792.
- ³⁸ Crews. H. M. (1998) Speciation of Trace Elements in Foods, with Special Reference to Cadmium and Selenium: Is It Necessary?. *Spectrochimica Acta*. Part B 53:213.
- ³⁹ Coppes, Z. (1999) Selenio en la Nutrición y el Cáncer. *Revista de la Asociación de Química y Farmacia del Uruguay*. 24.
- ⁴⁰ Reilly, C. (1998) Selenium: A New Entrant into the Functional Food Arena. *Trends in Food Science and Technology*. 9:114.
- ⁴¹ Desai, B. B., Kotecha, P. M. y Salunkhe, D. K. (1997) *Seeds Handbook. Biology, Production, Processing and Storage*. Marcel Dekker, N. Y., pág. 226.
- ⁴² Kinsella, J. E. y Mohite, R. R. (1985) The Physicochemical Characteristics and Functional Properties of Sesame Proteins, en *New Protein Foods*. Vol. 5 Seed Storage Proteins (eds. A. M. Altschul y H. L. Wilcke). Academic Press, Inc. Orlando, págs. 435-455.
- ⁴³ FAO (2002) FAOSTAT Agriculture Data. <http://www.apps.fao.org>
- ⁴⁴ Brito, O. J. y Núñez, N. (1982) Evaluation of Sesame Flour as a Complementary Protein Source for Combinations with Soy and Corn Flours. *Journal of Food Science*. 47:457.
- ⁴⁵ Rivero de Padua, M. (1983) Some Functional and Utilization Characteristics of Sesame Flour and Proteins. *Journal of Food Science*. 48:1145.
- ⁴⁶ Egbekun, M. K. y Ehieze M. U. (1997) Proximate Composition and Functional Properties of Fullfat and Defatted Beniseed (*Sesamum indicum* L.). *Plant Foods for Human Nutrition*. 51:35.
- ⁴⁷ Oshodi, A. A., Ogungbenle, H. N. y Oladimeji, M. O. (1999) Chemical Composition, Nutritionally Valuable Minerals and Functional Properties of Beniseed (*Sesamum radiatum*), Pearl Millet (*Pennisetum typhoides*) and Quinoa (*Chenopodium quinoa*) flours. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 50:325.
- ⁴⁸ Dench, J. E., Nilo Rivas, R. y Caygill, J. C. (1981) Selected Functional Properties of Sesame (*Sesamum indicum* L.) Flour and Two Protein Isolates. *J. Sci. Food Agric*. 32:557.
- ⁴⁹ Swick, R. A. y Tan, P. H. (1997) Characteristics of Protein Meals: Considerations in Using Common Asian Protein Meals. *Zootecnica Internacional*. Enero:24.
- ⁵⁰ Bodwell, C. E. y Hopkins, D. T. (1985) Nutritional Characteristics of Oilseed Proteins, en *New Protein Foods*. Vol. 5 Seed Storage Proteins (eds. A. M. Altschul y H. L. Wilcke). Academic Press, Inc. Orlando, págs. 221-242.
- ⁵¹ Wachter, M. C. (1996) *Manual de Técnicas de Laboratorio de Microbiología de Alimentos*. Facultad de Química, UNAM. Cd. de México.
- ⁵² Garthright, W. E. (1995) Appendix 2. Most Probable Number from Serial Dilutions, en *FDA Bacteriological Analytical Manual*. 8ª ed. AOAC International. Gaithersburg, app. 2.01.
- ⁵³ Hsu, H. W., Vavak, D. L., Satterlee, L. D. y Miller, G. A. (1977) A Multienzyme Technique for Estimating Protein Digestibility. *Journal of Food Science*. 42(5):1269.

- ⁵⁴ Peterson, G.L. (1977) A Simplification of the Protein Assay Method of Lowry *et al.* Which is More Generally Applicable. *Anal. Biochem.* 83:346.
- ⁵⁵ Lin, M. J. Y. y Humbert, E. S. (1974) Certain Functional Properties of Sunflower Meal Products. *Journal of Food Science.* 39:368.
- ⁵⁶ Pearce, K. N. y Kinsella, J. E. (1978) Emulsifying Properties of Proteins: Evaluation of a Turbidimetric Technique. *J. Agric. Food. Chem.* 26(3):716.
- ⁵⁷ Dagorn-Scaviner, C., Gueguen, J. y Lefebvre, J. (1987) Emulsifying Properties of Pea Globulins as Related to Their Adsorption Behaviors. *Journal of Food Science.* 52(2):335.
- ⁵⁸ Lawhon, J. T., Cater, C. M. y Mattil, K. F. (1972) A Whippable Extract from Glandless Cottonseed Flour. *Journal of Food Science.* 37:317.
- ⁵⁹ Norma Oficial Mexicana NOM-147-SSA1-1996. Bienes y servicios. Cereales y sus productos. Harinas de cereales, sémolas o semolinas. Alimentos a base de cereales, de semillas comestibles, harinas, sémolas o semolinas o sus mezclas. Productos de panificación. Disposiciones y especificaciones sanitarias y nutrimentales.
- ⁶⁰ Code of Federal Regulations (2001) 21CFR101.77. Health claims: fiber-containing grain products, fruits, and vegetables and cancer. Title 21, Volume 2. U.S. Government Printing Office via GPO Access, págs. 132-135.
- ⁶¹ Ulloa, J. A. y Valencia, M. E. (1992) Calidad Nutritiva de un Concentrado Proteínico de Garbanzo (*Cicer arietinum*) Obtenido por Ultrafiltración. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición.* 42(4):428.
- ⁶² Cid, J. A., Petenatti, E., Arellano, M., Muzaber, J. y Mucciarelli, S. L. (1991) Valor Biológico de la Proteína Foliar de *Artiplex suberecta*. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición.* 41(3):421.
- ⁶³ Lucas de Arellano, M., Scognamillo, G. B., García de Lúquez, N. A. y Lúquez de Mucciarelli, S. I. (1992) *Amaranthus mantegazzianus*. Composición Química y Valor Biológico de la Proteína. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición.* 42(1):41.
- ⁶⁴ Carrasco de Mendoza, M. S., Basflico, J. C., Umansky, G. y Scarinci, H. E. (1991) Estudio del Valor Biológico de la Proteína Unicelular de *Kluyveromyces marxianus var. Lactis*. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición.* 41(1):72.
- ⁶⁵ Diehl, J. F. (1995) Safety of Irradiated Foods, 2nd ed., Marcel Dekker, N. Y., págs. 60, 242-244.
- ⁶⁶ Food Policy and Food Science Service, Nutrition Division, FAO (1970) *Amino-Acid Content of Foods and Biological Data on Proteins*. FAO, Roma, págs. 132-133.
- ⁶⁷ Herrera, B. A. (1998) *Desarrollo de Métodos para Determinar Fitatos y Oxalatos y su Aplicación en Semillas Silvestres de Interés*. Tesis de Licenciatura, Facultad de Química, UNAM, México, D. F., págs. 11-13, 52, 53, 60.
- ⁶⁸ Linder, M. C. (1991) Nutrition and Metabolism of the Major Minerals, en *Nutritional Biochemistry & Metabolism with Clinical Applications*, 2^a ed. (ed. M. C. Linder). Prentice-Hall International Inc., Connecticut, págs. 205, 206.
- ⁶⁹ Hotz, C. y Gibson, R. S. (2001) Assessment of Home-Based Processing Methods to Reduce the Phytate Content and Phytate/Zinc Molar Ratio of White Maize. *J. Agric. Food Chem.* 49:692.
- ⁷⁰ Kumagai, H., Ishida, S., Koizumi, A., Sakurai, H. y Kumagai, H. (2002) Preparation of Phytate-Removed Deamidated Soybean Globulins by Ion Exchangers and Characterization of their Calcium-Binding Ability. *J. Agric. Food Chem.* 50:172.

-
- ⁷¹ Carter, F. L., Cirino, V. O. y Allen, L. E. (1961) Effect of Processing on the Composition of Sesame Seed and Meal. *The Journal of the American Oil Chemists' Society*. 38:148.
- ⁷² Manahan, S. (1992) *Toxicological Chemistry*, 2ª ed. Lewis Publishers, Michigan, págs. 254-257, 424.
- ⁷³ Linder, M. C. (1991) Nutrition and Metabolism of Trace Elements, en *Nutritional Biochemistry & Metabolism with Clinical Applications*, 2ª ed. (ed. M. C. Linder). Prentice-Hall International Inc., Connecticut, pág. 264, 270.
- ⁷⁴ López, N. G. (2001) *Elaboración de un Complemento Alimenticio Líquido Utilizando Proteínas Aisladas del Ajonjolí*. Tesis de Licenciatura, Facultad de Química, UNAM, México, D. F., págs. 60-65.
- ⁷⁵ Utsumi, S., Matsumura, Y. y Mori, T. (1997) Structure-Function Relationships of Soy Proteins, en *Food Proteins and their Applications* (eds. S. Damodaran y A. Paraf). Marcel Dekker Inc. N. Y., págs. 276-277.
- ⁷⁶ Slattery, H. y Fitzgerald, R. J. (1998) Functional Properties and Bitterness of Sodium Caseinate Hydrolysates Prepared with a *Bacillus* proteinase. *Journal of Food Science*, 63:418.
- ⁷⁷ Hahn, D. H. (1990) Application of Rheology in the Pasta Industry, en *Dough Rheology and Baked Product Texture*. (eds. H. Faridi y J. M. Faubion). Van Nostrand Reinhold, N. Y. 385-402.
- ⁷⁸ Morales de León, J., Mercado Godínez, M. P. y Cecín Salomón, P. (1997) Desarrollo de una Pasta para Sopa Diseñada de Acuerdo a los Gustos y Recomendaciones Nutricias para los Ancianos. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. 47(2):152.
- ⁷⁹ INEGI (2002) XII Censo General de Población y Vivienda, 2000. <http://www.inegi.gob.mx>