



*Universidad Nacional Autónoma
de México*

*Escuela Nacional de Estudios Profesionales
Iztacala*

COMPLEMENTACION DE CONCENTRADO
PROTEICO FOLIAR DE ALFALFA
(Medicago sativa) CON CONCENTRADO
PROTEICO DE SEMILLA DE AJONJOLI
(Sesamum indicum)

T E S I S

Que para optar al Título de
B I O L O G O

p r e s e n t a

Arturo Barrón González



Los Reyes Iztacala

Sept. - 1987



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.

T I T U L O

"COMPLEMENTACIÓN DE CONCENTRADO PROTEICO
FOLIAR DE ALFALFA (*Medicago sativa*) CON
CONCENTRADO PROTEICO DE SEMILLA DE AJONJOLÍ
(*Sesamum indicum*)"

DEDICATORIA:

A TODAS LAS PERSONAS QUE DE
ALGUNA MANERA CONTRIBUYERON A
LA REALIZACION DE ESTE TRABAJO,
VA DIRIGIDA ESTA DEDICATORIA Y
MI MAS PROFUNDO AGRADECIMIENTO.

AGRADECIMIENTOS:

AGRADEZCO A AVON COSMETICS, S. A.
DE C. V. LA AYUDA ECONOMICA
PRESTADA DURANTE LA REALIZACION
DE ESTE TRABAJO DE TESIS.

EL PRESENTE TRABAJO DE TESIS FUE
REALIZADO EN EL AREA DE ALIMENTOS
DEL DEPARTAMENTO DE BIOTECNOLOGIA
Y BIOINGENIERIA DEL CENTRO DE
INVESTIGACION Y DE ESTUDIOS AVANZADOS
DEL I.P.N. BAJO LA DIRECCION DEL
M. EN C. RUTILLO CASTELLANOS MOLINA,
A LOS CUALES APROVECHO LA OCASION
PARA EXPRESARLES MI CONSIDERACION
Y PROFUNDO AGRADECIMIENTO.

I N D I C E

Introducción	página 1
Antecedentes	página 7
Material	página 17
Métodos	página 19
Resultados	página 34
Discusión de Resultados	página 57
Conclusiones	página 59
Bibliografía	página 62

INDICE DE TABLAS:

TABLA I:	ANALISIS BROMATOLOGICO	página 37
TABLA II:	AMINOGRAMAS	página 38
TABLA III:	RENDIMIENTOS DE EXTRACCION DE PROTEINA DE ACUERDO AL pH DE FLOCULACION	página 39
TABLA IV:	RENDIMIENTOS DE PROTEINA RECUPERADA	página 40
TABLA V:	NIVELES DE LISINA Y METIONINA EN PRODUCTOS OBTENIDOS	página 41
TABLA VI:	VALORES DE DIGESTIBILIDAD "IN VITRO" OBTENIDOS	página 42
TABLA VII:	NIVELES DE LISINA DISPONIBLE	página 43
TABLA VIII:	NIVELES DE ACIDO OXALICO	página 44
TABLA IX:	COMPOSICION DE DIETAS	página 45
TABLA X:	COMPOSICION DE LA MEZCLA DE SALES MINERALES UTILIZADA EN LAS DIETAS	página 46
TABLA XI:	COMPOSICION DE LAS DIETAS UTILIZADAS EN LA DETERMINACION DE LA RELACION DE EFICIENCIA PROTEICA	página 47
TABLA XII:	VALORES DE RELACION DE EFICIENCIA PROTEICA (R.E.P.)	página 48

INDICE DE FIGURAS:

FIGURA I:	PROCESO PRO-XAN (Modificado) PARA LA OBTENCION DE CONCENTRADO PROTEICO FOLIAR DE ALFALFA	página 49
FIGURA II:	DIAGRAMA DE FLUJO PARA LA OBTENCION DE CONCENTRADO PROTEICO DE SEMILLA DE AJONJOLI	página 50
FIGURA III:	RENDIMIENTO DE PROTEINA OBTENIDA vs. pH	página 51
FIGURA IV:	CALIFICACION QUIMICA EN RELACION A LISINA-METIONINA	página 52
FIGURA V:	AUMENTO DE PESO vs. TIEMPO EN ANIMALES DE LABORATORIO	página 53
FIGURA VI:	PESO DE ALIMENTO CONSUMIDO PROMEDIO vs. TIEMPO	página 54
FIGURA VII:	PESO DE ALIMENTO CONSUMIDO POR PERIODO SEMANAL	página 55
FIGURA VIII:	RELACION DE EFICIENCIA PROTEICA DE ACUERDO AL TIEMPO Y DIETA	página 56

INTRODUCCION

La desnutrición es un problema de gran magnitud en el mundo y es más acentuado en los países en desarrollo, donde afecta mayormente a lactantes, niños en edad preescolar y mujeres embarazadas (31). Es claro que esta situación se ve más deteriorada dada la cada vez más limitada disponibilidad de alimentos en cuanto a calidad y cantidad (9).

Para 1970 los nutricionistas señalaban un déficit mundial de 10 millones de toneladas anuales de proteínas, de las cuales 5.5 millones serían de origen animal, considerando una producción de 40 millones de toneladas de proteína de leguminosas (41).

En 1975 con una población calculada de 4×10^9 habitantes en el mundo, se consideraba que existían aproximadamente 5×10^8 personas (12.5%) con problemas de desnutrición crónica, y esto quizá sea una visión optimista del problema (31,43).

La perspectiva de la alimentación mundial, se hace más dramática si consideramos una proyección basada en las tasas de crecimiento poblacional, que prevé un incremento del 50 al 100% para el último cuarto del siglo (33,43).

Ya en 1798 Malthus en su "An assay on the principles of population", hace hincapié en que el aumento poblacional, -- siempre superará el aumento en la producción de alimento que crece de manera aritmética (43).

A todo esto se han planteado varias alternativas, como sería la distribución de alimentos de los países que los tengan en abundancia, hacia los países que sufran carestía de -- ellos, otra alternativa drástica sugiere la posibilidad de -- abandonar a su suerte, a los países que no presentan una posibilidad real de superar sus problemas de supervivencia (43). También se ha planteado la posibilidad de incrementar la producción de alimentos por medio del establecimiento de métodos intensivos de cultivo, (elaboración de alimentos balanceados - para ganado y mejoramiento genético de especies (41).

Por otra parte, hay en el mundo gente convencida de que es posible aliviar un poco el problema de la desnutrición, con la incorporación a la dieta humana de fuentes proteicas, obtenidas a partir de materias primas que no son usadas para estos fines, llamados fuentes proteicas no convencionales (1,5,9,17, 21,23,29,32,41).

Los campos de investigación a este respecto, incluyen materiales foliares (hojas verdes), semillas de oleaginosas, Bio masa de Microorganismos, estudiando la posibilidad del estable

cimiento de procesos de purificación y destoxificación de las materias primas, para su adecuada incorporación a la alimentación humana enriqueciéndola, complementándola y/o substituyendo, además de que se pretende que estos procesos puedan ser - enmarcados dentro de un esquema de aprovechamiento integral de las materias primas, para no mermar demasiado su uso convencional (2,6,17,27).

En la actualidad, es un hecho que las fuentes proteicas - no convencionales, pueden representar una importante alternativa como ayuda para resolver el problema de la desnutrición en el mundo, y la biotecnología, como una parte de su campo de acción se ocupa del desarrollo de procesos para la preparación, conservación y la evaluación biológica de los productos obtenidos para determinar la viabilidad de incorporación a la alimentación humana.

En promedio, el consumo total de proteína alcanza en el - país, sin considerar la zonación económica, el 78% de las recomendaciones de nutrimentos; sin embargo, respecto al consumo de proteína de origen animal sólo se alcanza el 57% de las recomendaciones, lo cual nos da una idea aproximada de la deficiencia en el consumo de proteína de elevado valor nutricional, que conlleva deficiencias en el estado alimenticio del pueblo mexicano.

En casi todos los medios sociales de la República Mexicana, el porcentaje de adecuación proteica no alcanza las recomendaciones, aunque ésta es una situación más crítica en el medio rural que en el medio urbano, y afecta más drásticamente los grupos de preescolares y escolares, donde sólo alcanza un poco más de 50% de los requerimientos propios para su grupo de edad, esto redundando enormemente sobre su desarrollo físico, mental y social (15).

Incluso se puede hablar de que la elevada mortalidad infantil que se presenta en nuestro país, está vinculada a la estrecha relación que se establece entre las carencias nutricionales en la época de mayores demandas fisiológicas, y los procesos infecciosos y parasitarios (15).

Por último se calcula que, aproximadamente el 50% de la población de nuestro país, se encuentra en estado de desnutrición crónica (15).

OBJETIVO GENERAL

OBTENCIÓN DE UNA MEZCLA DE ELEVADO VALOR NUTRICIONAL DE ACUERDO A LA ADECUADA COMPLEMENTACIÓN DE AMINOÁCIDOS DE LAS PROTEÍNAS FOLIARES DE ALFALFA (Medicago sativa) CON LAS PROTEÍNAS DE LA SEMILLA DE AJONJOLÍ (Sesamum indicum).

OBJETIVOS INTERMEDIOS

- OBTENCION DE CONCENTRADO PROTEICO FOLIAR DE ALFALFA.
- OBTENCION DE CONCENTRADO PROTEICO DE SEMILLA DE AJONJOLI.
- DETERMINACION DE CONCENTRACION DE ACIDO OXALICO EN ESTE PRODUCTO.
- ANALISIS BROMTOLOGICO DE MATERIAS PRIMAS Y PRODUCTOS.
- DETERMINACION DE COMPOSICION DE AMINOACIDOS EN LOS DOS PRODUCTOS PROTEICOS.
- DETERMINACION DE DIGESTIBILIDAD "IN VITRO".
- DETERMINACION DE CALIFICACION QUIMICA PARA LAS PROTEINAS OBTENIDAS.
- ELABORACION DE DIETA PARA ANIMALES DE LABORATORIO.
- EVALUACION DE R.E.P. (RELACION DE EFICIENCIA PROTEICA).
- DETERMINACION DE NIVELES DE LISINA DISPONIBLE.

ANTECEDENTES

En el mundo se empieza a visualizar la posibilidad del uso de fuentes de proteína no convencionales, desde la primera mitad del siglo XX como una alternativa para aliviar un poco el problema de la desnutrición en el mundo (14,34).

En 1942 en Inglaterra, Pirie, publica resultados relativos a estudios de proteínas extraídas de hojas, también menciona, la importancia del fraccionamiento de los cultivos, para obtener las proteínas contenidas en las hojas, dado el pobre rendimiento de conversión de Nitrógeno vegetal a Nitrógeno animal, que realizan los rumiantes (14).

En EEUU desde 1942, Bickoff y Kohler investigan sobre la posibilidad de extracción de proteínas de alfalfa, en 1970 sale a la venta un producto comercial denominado X-Pro con un contenido de 40% de proteína, 300 mg. de carotenos y 900 mg. de xantofilas en un kilogramo de producto (14).

Hallo en 1970 en Hungría, deposita una patente destinada a proteger un procedimiento de obtención de un concentrado proteico de vegetales verdes denominado VEPEX (14).

Actualmente se tienen referencias de investigadores en todo el mundo, que dentro de sus programas incluyen el proce-

samiento de vegetales y desechos agroindustriales con el fin de obtener harinas, concentrados y aislados proteicos, evaluando las posibilidades de integrarlos a la alimentación humana (5,9,11,17,18,19,24,26,27,33,34,35,40).

Aquí es importante mencionar que los bajos rendimientos de conversión de nitrógeno vegetal a nitrógeno animal de los rumiantes, implica un serio desperdicio de las proteínas de los vegetales que regularmente se usan en la alimentación de estos animales y apoyan la idea del fraccionamiento de estos vegetales y su aprovechamiento por el hombre en forma de concentrados y aislados proteicos, y que el material remanente pueda ser usado en la alimentación animal (14,35,19).

En la actualidad los vegetales que más se estudian como fuentes alternas de proteínas son: semillas de oleaginosas (algodón, soya, ajonjolí, cártamo, girasol), material foliar de alfalfa y mandioca o yuca.

ALFALFA (*Medicago sativa*)

Quizá se empezó a usar como alimento en 1,300 años antes de nuestra era, pero se especula que pudo haber sido 7000-4000 años antes, en los países mediterráneos, aunque siempre se ha usado muy poco como alimento; la alfalfa seca se ha vendido durante mucho tiempo en forma de té y tabletas en tiendas de

alimentos naturales. Sin embargo, a pesar de todo esto, como fuente de nutrición, constituye una ínfima parte en la dieta del ser humano y no se ve que esta situación pueda cambiar en el futuro (27).

El cultivo de alfalfa en Francia, considerando que el material foliar contiene el 20% de proteína (N x 6.25) en base seca y con rendimientos de 2.7 a 4.4 toneladas/ha. por año, - permiten teóricamente producir de 0.8 a 2.2 toneladas/ha. por año de proteína foliar (14). Los rendimientos de proteína seca pueden ser de 2 toneladas/ha. en Inglaterra y de 3 toneladas/ha. en la India (35).

En México, la tabla I presenta la producción de alfalfa para el año de 1982.

Tabla I*

Producto	Superficie Cosechada (ha.)	Producción (ton.)	Valor de la producción (\$x10 ⁶)	Importación (ton.)	Exportación (ton.)
Alfalfa	259,878	17,167,428	13,802	8,333	- - -

La alfalfa presenta proteínas de valor nutricional aceptable, por su composición en aminoácidos. Presenta minerales y vitaminas, pero su contenido de proteína en fresco, es dema--

* Año agrícola 1982. Fuente SARH-DGEA (3).

siado bajo (2 a 5%) y presentan niveles de fibra cruda elevados, por lo que alimentarse de material foliar de alfalfa supera con mucho, la capacidad del aparato digestivo humano. -- Para subsanar este inconveniente, se ha propuesto un esquema de procesamiento, que pretende la obtención de concentrados proteicos foliares (41).

En Nigeria, se ha experimentado un concentrado proteico en niños con Kwashiorkor (deficiencia proteica), con una dosis de 10 g. diarios durante 10 días y desapareció el edema, aumentó el nivel de las proteínas sanguíneas y se mostraron los niños más alertas mentalmente (41).

Bickoff y Kohler describen un proceso para la obtención de concentrados proteicos foliares llamado PRO-XAN (proteína-xantofilas), y señalan que de los 20 mayores cultivos practicados en el mundo, la alfalfa ofrece mayores perspectivas en este sentido por sus altos rendimientos de cosecha (41).

Una de las ventajas con que cuentan los concentrados proteicos foliares, es que pueden ser elaborados en poblados de países subdesarrollados, en donde la necesidad de mejorar la alimentación es grande, y pueden ser aprovechados como una fuente de buena proteína en lugares tropicales, por su abundancia (35).

Los concentrados proteicos de alfalfa cuentan con una buena composición de aminoácidos, sólo deficiente en aminoácidos azufrados (Metionina y cisteína).

AJONJOLI (*Sesamum indicum*)

La FAO en 1970 informa que 63 millones de toneladas de semillas de oleaginosas son empleadas para obtener aceite, -- alimento para animales y fertilizantes, de tal modo que se -- desperdician alrededor de 30 millones de toneladas de posible alimento para humanos (41).

En América Latina se cuenta con grandes cosechas de semillas de oleaginosas, lo que ha ayudado a que se impulse la investigación en torno a éstas, como una fuente alterna de proteína para consumo humano (9).

Por su calidad, disponibilidad y bajo costo, la proteína de semilla de oleaginosas representa una alternativa real para aliviar un poco el problema de la desnutrición en el mundo (17,41).

En nuestro país anualmente se incrementa la demanda de aceite en 20,000 toneladas; consecuentemente, si esta demanda es cubierta, se cuenta con una mayor cantidad de pasta resi--

dual que generalmente, es usada para alimentación animal y -- que podría ser destinada, previa adecuación, para alimenta-- ción humana (17).

La semilla de ajonjolí presenta grandes posibilidades como fuente de proteína, ya que presenta niveles de 19-20% en la semilla entera, y alrededor de 40% de proteína en la pasta residual, una vez extraído el aceite (5,17). Quizá la característica más atrayente de las proteínas de ajonjolí, sea el -- buen nivel de aminoácidos azufrados que presenta, aunque sea deficiente en lisina (5,10,17).

Entre los inconvenientes que presenta el uso de la harina de ajonjolí para alimentación humana, están en alto contenido de fibra cruda y los niveles de ácido oxálico (5,17).

La tabla II presenta los datos de producción para la Repú blica Mexicana en el año de 1982.

Tabla II*

Produc to	Superficie Cosechada (ha)	Produc. (ton.)	Valor de la producción (\$ x 10 ⁶)	Importación (ton.)	Exportación (ton.)
Semilla	95,078	45,586	900	- - -	30,548

* Año agrícola 1982. Fuente SARH - DGEA (3).

COMPLEMENTACION PROTEICA:

Abordando el campo de la complementación proteica o de aminoácidos, se sabe que el valor biológico o nutricional de las proteínas, está dado por su perfil o composición de aminoácidos; incluso la FAO ha determinado un patrón de referencia de niveles de aminoácidos esenciales (no pueden ser sintetizados por el organismo humano a partir de precursores) (17,29,31). También se sabe que en general las proteínas vegetales contienen bajos niveles de aminoácidos esenciales, por lo que su valor nutritivo es bajo (25,37,41). Y en particular las proteínas foliares son muy pobres en aminoácidos azufrados -- (metionina y cisteína), pero tienen a su favor elevados niveles de lisina y otros aminoácidos esenciales; por otro lado, se sabe que las proteínas de la semilla de ajonjolí presentan buenos niveles de aminoácidos azufrados, lo que implicaría -- una buena complementación entre las proteínas de la alfalfa y de la semilla de ajonjolí (30,9).

Este trabajo ha sido planteado porque además presenta la posibilidad de ser enmarcado dentro de un esquema de aprovechamiento integral de las materias primas, de tal modo que se pretende utilizar material foliar de alfalfa, procesarlo por medio del proceso conocido como PRO-XAN que permite la utilización de los subproductos en muchas otras aplicaciones como alimento para rumiantes y/o fertilizantes (24,27).

FACTORES ANTINUTRICIONALES:

En relación a los factores antinutricionales asociados a las materias primas, se sabe que la alfalfa presenta niveles no deseados de saponinas, que son esteroides con capacidad tensoactiva y hemolítica (38), y que la semilla de ajonjolí conlleva asociados factores como el ácido fítico que al unirse fácilmente al zinc, provoca deficiencia de este elemento en el organismo, además de elevados niveles de ácido oxálico que se asocia fácilmente con el calcio, y provoca la misma situación; por último, se ha reportado la presencia de selenio asociado a las proteínas de la semilla de ajonjolí (30).

Una de las finalidades de obtener las proteínas vegetales en forma de aislados y concentrados, es precisamente la de eliminar estos factores antinutricionales o de disminuir sus niveles, a tal grado que no afecten de manera determinante el funcionamiento de los organismos que los consumen, aquí también podríamos incluir los elevados niveles de fibra que presentan los vegetales y que son no digeribles por los organismos monogástricos (31).

Tabla III.

Composición de aminoácidos esenciales (g/16 g. de N₂)*

Aminoácidos	Alfalfa	Ajonjolí	Patrón FAO/WHO 1973
Leucina	7.6	6.4	7.0
Isoleucina	4.9	3.2	4.0
Valina	5.7	4.7	5.0
Lisina	5.1	1.9	5.5
Metionina	1.9	3.0	3.5 + Cist.
Fenilalanina	6.1	6.4	6.0 + Tir.
Treonina	3.8	4.5	4.0
Triptófano	---	---	1.0

* Datos bibliográficos.

En México, además de otras instituciones, el Centro de -- Investigación y de Estudios Avanzados del I. P. N., por medio del Departamento de Biotecnología y Bioingeniería, trabaja en la obtención de fuentes proteicas no convencionales; es en esta parte donde se encuadra la naturaleza de este trabajo, donde se plantea la posibilidad de desarrollar métodos y procesos para la obtención de concentrados proteicos foliares de alfalfa (Medicago sativa), concentrado proteico de ajonjolí (Sesamum indicum) y de complementar estos productos en relación de mezcla ideal para obtener un producto proteico de alto valor nutricional.

MATERIAL

- Material foliar de alfalfa.
- Semilla de ajonjolí.
- Reactivos químicos marca J. T. Baker, Mallinckrodt grado reactivo analítico.
- Estufa de vacío modelo Thelco marca Precision Scientific Co.
- Kjeltex Sytem, unidad de digestión, destilación y titulación marca Tecator.
- Balanza granataria modelo 700 marca Ohaus Scale Corporation.
- Centrífuga modelo CU-5000 de Damon-IEC Division.
- Baño metabólico marca Lab. Line Instruments.
- Unidad de digestión marca Lab-Con-Co.
- Unidad Soxlet marca Lab-Line Instruments.
- Balanza analítica marca Sauter modelo 404.
- Propela eléctrica marca Cafrano modelo RZRI.
- Propela eléctrica marca Lightnin modelo 10.
- Mufla eléctrica de Constructor de Aparatos Especiales, S. A.
- Estufa de tiro forzado marca J. M. Ortiz.
- Centrífuga de canasta marca M. Támez D.S.A.

- Marmita fabricada por Poliingenieros.
- Secador por aspersion marca Niro Atomizer.
- Liofilizadora marca New Brunswick Co. modelo V-13.
- Licuadora marca Waring (4 lt).
- Homogeneizador marca Eili-Dicon (200 lt).
- Criba marca Tyler modelo Rx-24.
- Autoanalizador de aminoácidos marca Beckman modelo 118-CL.
- Cristalería marca Pyrex, Kimax.

MÉTODOS:

1. NITROGENO TOTAL.

El método usado fue el especificado por la Association of Official Analytical Chemists (método Kjeldahl) 42-014/70 (4).

Se colocaron 15 a 100 mg de muestra en un matraz Microkjeldhal; a cada muestra se le adicionaron 1.9 g de sulfato de potasio (K_2SO_4), 40 mg. de óxido de mercurio rojo (HgO) y 2 ml. de ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4) libre de nitrógeno. Los sistemas así preparados se colocaron en un equipo de digestión Labconco modelo 60300 C que funciona a base de resistencias eléctricas, la digestión se hizo durante 1.5 a 2 horas de calentamiento después de que la muestra hubo clarificado. Hecho esto, las muestras se transfirieron a un destilador Labconco modelo 811-prospect, lavando los matraces dos a tres veces con agua destilada. Antes de iniciar la destilación se colocó abajo del destilador un matraz Erlenmeyer de 125 ml. de capacidad, el cual contenía 5 ml. de solución saturada de ácido bórico (aproximadamente al 5%) al cual se le agregaron de 2 a 4 gotas de indicador rojo de metilo-azul de metileno; este indicador se prepara mezclando dos partes de solución alcohólica de rojo de metilo al 0.2% con una parte de solución alcohólica de azul de metileno también al 0.2%. El matraz se colocó de tal forma que la terminal del condensador desembocara en el seno de la solución. A las muestras en el aparato destilador

se les adicionó 10 ml. de solución de hidróxido de sodio-tio-sulfato de sodio (esta solución se preparó diluyendo 60 g. de NaOH, 5 g. de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ y aforando a 100 ml.), después de esto, se dio principio a la destilación por arrastre de vapor. Se colectaron aproximadamente 50 ml. de destilado y se titularon con HCl 0.01 N hasta el vire a color violeta del indicador, y se calculó el nitrógeno contenido en la muestra según la ecuación siguiente:

$$\%N = \frac{(14.007) (N) (V)}{W} (100)$$

Donde:

%N = % de nitrógeno total.

N = Normalidad del HCl

V = Volumen del ácido gastado al titular

W = Peso de la muestra (mg).

A partir de esto se tiene:

$$\% \text{ Proteína} = \%N (6.25)$$

2. EXTRACTO ETereo.

Se usó el método 7 - 048 / 70 de la A. O. A. C. (4).

Se pusieron a peso constante un matraz balón de 500 ml., un cartucho de extracción y un papel filtro (de una porosidad que permitía el flujo de éter); para este fin se utilizó una

estufa de vacío marca Thelco modelo 19 fabricada por Precision Scientific Company.

Se tomó una porción del material, el cual fue llevado hasta peso constante en estufa de vacío a 70°C, se tomaron 2 g. - de muestra para hacer la determinación.

Este material una vez deshidratado se transfirió envuelto en el papel filtro al cartucho de extracción y se colocó en un equipo Soxhlet marca Pyrex, extrayéndose con éter de petróleo a reflujo durante 4 a 6 horas a una velocidad de condensación de 4 a 6 gotas por segundo, o a lo largo de una noche a una velocidad de 2 a 3 gotas por segundo; al término de este lapso - de tiempo se recuperó el éter dentro del mismo equipo, al cual ya se le había retirado el cartucho. El cartucho de extracción con todo y muestra desgrasada, al igual que el matraz fueron - llevados a peso constante en estufa de vacío a 70°C. Para calcular la cantidad de extracto, se utilizaron las siguientes -- ecuaciones:

$$\%EE = \frac{PFM - PIM}{PM} (100)$$

$$\%EE = \frac{PIC - PFC}{PM} (100)$$

Donde:

%EE = % de extracto etéreo.

PFM = Peso final del matraz.

PIM = Peso inicial del matraz.

PIC = Peso inicial del cartucho.

PFC = Peso final del cartucho.

PM = Peso de la muestra.

3. FIBRA CRUDA.

Para esta determinación se usó el método propuesto por Van Der Kramer y Van Ginkell (39).

Se pesaron en balanza analítica 2 g de muestra, la cual - había sido desgrasada previamente (se recomienda usar la muestra que queda de la determinación de extracto etéreo) y se colocaron en un matraz balón; se le adicionaron 2 g de ácido tricloroacético, 5 ml. de ácido nítrico y 70 ml. de solución acuosa de ácido acético al 70%. El sistema así preparado se puso a hervir con agitación constante y en reflujo durante 30 minutos, al finalizar éstos, la mezcla de reacción se filtró a través de un embudo con fondo de vidrio poroso, que fue puesto - previamente a peso constante en estufa de vacío. Una vez terminada la filtración, se lavó la fracción sólida retenida en el embudo con agua caliente hasta que el olor a ácido nítrico desapareció, llevándose finalmente a peso constante. El contenido de fibra cruda se calculó mediante la ecuación siguiente:

$$\%FC = \frac{PES - PEV}{PM} (100)$$

Donde:

%FC = % de fibra cruda.

PES = peso del embudo con sólidos (peso constante).

PEV = peso de muestra antes de desgrasasr.

Para materiales con más del 5% de cenizas se hace la corrección de acuerdo al porcentaje de éstas.

4. CENIZAS.

Para esta determinación se usó el método 7 - 010/1970 de la O.A.C. (4). Un crisol fue llevado a peso constante en la mufla, al cual se le pusieron 2 g. de muestra previamente deshidratada, colocando éste en una mufla a 600°C aproximadamente, y dejándolo durante dos horas en ella. Al término de este tiempo, se pasó a un desecador y se pesó una vez frío. El contenido de cenizas en la muestra se encontró utilizando la siguiente ecuación:

$$\%C = \frac{PCC - PCV}{PM} (100)$$

Donde:

%C = % de cenizas.

PCC= peso de crisol con cenizas.

PCV= peso de crisol vacío.

PM = peso de la muestra.

5. HUMEDAD.

Esta medición fue llevada a cabo según el método 7 - 003/1970 de la A.O.A.C. (4).

Se tomó una charolita metálica (puesta a peso constante) y en ella se pesaron analíticamente 2 g. de muestra; se secó en estufa de vacío a una temperatura de 70°C durante 6 horas, posteriormente se enfrió en desecador y se pesó, obteniéndose la cantidad de humedad según la ecuación siguiente:

$$\%H = \frac{PI - PF}{PM} (100)$$

Donde:

%H = % de humedad.

PI = Peso de la charolita con muestra fresca.

PF = Peso de la charolita con muestra seca.

PM = Peso de la muestra.

6. PROCESO PRO-XAN (Modificado).

- Alfalfa fresca.
- Selección y limpieza del material.
- Molienda, en licuadora Waring con agua potable al pH que se encuentra en relación 1:2 (p/v) 3 minutos efectivos de moli-

- do, evitando que la temperatura ascienda sobre los 40°C.
- Separación sólido-líquido en centrífuga de canasta con filtro de lona, a 1800 r.p.m. por tiempo adecuado.
 - Floculación con vapor directo sobre el jugo hasta alcanzar 85°C fijar el pH en 8.0 con hidróxido de sodio, solución -- 1.0 N.
 - Separación proteína-jugo residual, en centrífuga de canasta con filtro de lona a 1800 r.p.m., el coágulo proteico queda retenido en la lona y se desecha un jugo café.
 - Despigmentación del coágulo proteico, con etanol industrial a reflujo en Soxhlet por tiempo adecuado.
 - Secado, en estufa de vacío a 50-60°C por tiempo suficiente.
 - Obtención de concentrado proteico de alfalfa.

7. PROCESOS PARA LA OBTENCIÓN DE CONCENTRADO PROTEICO DE AJONJOLÍ.

- Semilla de ajonjolí entera.
- Limpieza del material.
- Descascarillado químico, agitación a 1700 r.p.m. con propela

eléctrica, en solución de NaOH 0.6%, en relación 1:5 (p/v) durante 60 min. a 45°C de temperatura. Una vez logrado esto, se separan las fracciones (semilla-cascarilla) en una solución acuosa de NaCl al 15% donde se separan por diferencia de densidad y se recupera la semilla manualmente, se lava con agua corriente para eliminar el exceso de sal, después se seca en estufa de tiro forzado a 50°C.

- Desengrasado, en primera instancia por compresión en prensa hidráulica a 8.0 ton. métricas durante 60 min., seguido de una extracción con éter de petróleo en Soxhlet durante 18 horas. Se seca a intemperie o en estufa de tiro forzado a 50°C.
- Molienda en molino de martillos con malla # 24.
- Lavados ácidos a la harina de ajonjolí obtenida, del siguiente modo, se adiciona agua destilada en relación 1:10 (p/v) y se ajusta el pH a 4.5 con una solución de HCl en concentración 1.0N, se agita 30 minutos con propela eléctrica a 25°C, después se centrifuga a 2900 r.p.m., durante 25 min., se recupera la pastilla y se lava con agua destilada. Esta operación se repite 3 veces por completo.
- Secado en estufa de vacío a 50 - 60°C.
- Obtención de concentrado proteico de ajonjolí.

8. DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DE ACIDO OXALICO

Reactivos:

H_2SO_4 , R.A., 2N, H_2SO_4 , R.A. 5% (v/v), $KMnO_4$, R. A., 0.01N preparado antes de usar de una solución 0.1N.

Reactivo precipitante:

Solución A: se disuelven 96.5 g de acetato de sodio anhidro por calentamiento en agua destilada y aforar a 250 ml.

Solución B: Se disuelven 12.5 g de cloruro de calcio anhidro en 250 ml. de una solución de ácido acético acuoso al 50%.

La solución A se mezcla con la solución B y se filtra despues de dejar reposar en un refrigerador por 48 horas. Se -- guarda en el refrigerador.

Procedimiento:

La muestra se seca a $100^{\circ}C$ y se muele en un molino de laboratorio. Se pesa de 1.0 a 2.0 g de muestra y se transfiere a un matraz aforado de 100 ml. Se adiciona 50 ml de H_2SO_4 al 5% y se calienta el matraz en baño María a $70^{\circ}C$ durante 90 minutos, agitando constantemente; después de enfriar el matraz, - se añade la cantidad necesaria de agua destilada para aforar a 100 ml y se homogeniza completamente. Se toma una alícuota de 10 ml y se coloca en un tubo centrífuga. Centrifugar de 1500 a 2000 r.p.m. durante 15 minutos y a continuación decantar la

solución en un tubo de ensayo y adicionar 6 ml. de "reactivo precipitante" y se agita. El oxalato de calcio se precipita durante toda la noche.

Filtrar el precipitado de oxalato de calcio en un embudo Buchner usando papel filtro Whatman No. 42 filtrando al vacío y lavar con agua destilada (si la muestra tiene grasa, adicionar 10 ml. de éter de petróleo y continuar lavando con agua -- destilada).

Una vez filtrado colocar el papel filtro en un embudo de cola larga. A continuación romper el fondo del papel filtro y bajar el precipitado con 50 ml. de agua destilada y caliente en un Erlenmeyer de 250 ml., después con 25 ml. de H_2SO_4 2N caliente y por último con 25 ml. de agua destilada y caliente. - Calentar la solución a $70^\circ-80^\circ C$ y titular con KmN 0.01N, agitando hasta la aparición de un color rosa que dure por lo menos 30 segundos. Al mismo tiempo se corre una solución de trabajo con celulosa y ácido oxálico R. A., y un blanco de reactivos.

Cálculos:

$$\%CaC_2O_4 = \frac{VN (0.06405)}{\text{Peso muestra g}} (100)$$

$$\text{meq. } CaC_2O_4 = 0.06405$$

N = Normalidad del KMnO_4

V = Volumen gastado de KMnO_4

9. AMINOGRAMAS.

Los aminogramas fueron realizados en el laboratorio de -- Bioquímica de Alimentos del Departamento de Biotecnología y - Bioingeniería del Centro de Investigación y de Estudios Avanzado del I. P. N. en un autoanalizador Beckman modelo 118 Cl., donde la muestra se inyecta después de ser sometida a hidrólisis bajo las siguientes condiciones, HCl, 6 normal, al cual se le adiciona 0.05 ml. de mercaptoetanol por cada mililitro de HCl temperatura 105°C durante 22 horas en estufa de vacío y - en ampolleta sellada, después se evapora el HCl y se le agrega un mililitro de solución amortiguadora de citrato de sodio de pH 3.25, se filtra y se toman 100 microlitros que se inyectan en el autoanalizador que funciona básicamente como un cromatógrafo de gases, y grafica picos para cada uno de los aminoácidos que se encuentran en la muestra.

10. DIGESTIBILIDAD ("in vitro").

Se determina por el método de la A.O.A.C. 7.040/70 (4).

Se pesan 0.5 g. de muestra y se adiciona 150 ml. de suspensión de pepsina (actividad 1:10000) en concentración de -- 2.0 g/1 en HCl 0.075 N. Las muestras se colocan en una estufa a 45°C con agitación durante 16 horas. El residuo no dige

ruido se separa por centrifugación a 2900 r.p.m. en una centrífuga Damon/IEC Division CU-5000. En el sobrenadante se determina nitrógeno total solubilizado.

$$\% \text{ N Digerido} = \frac{\text{N Solubilizado} - \text{N de pepsina}}{\text{N total de muestra}} \times 100$$

11. CALIFICACIÓN QUÍMICA.

La proporción de concentrado proteico de alfalfa y concentrado proteico de ajonjolí para la mezcla, se determinó en base al contenido de lisina y metionina, respectivamente, gratificando la calificación química obtenida por cada uno de los aminoácidos en las diferentes proporciones de la dieta con relación al patrón de FAO/WHO (1973) se obtuvo el cruce de las líneas que corresponde a la suplementación más favorable (17).

$$\text{Calif. química} = \frac{\text{Conc. del Aa. Limitante de la muestra}}{\text{Conc. del Aa. en proteína patrón}} \times 100$$

12. DETERMINACIÓN DE LA RELACION DE EFICIENCIA PROTEICA.

La evaluación nutricional de las diferentes fuentes proteicas mediante la relación de eficiencia proteica (REP) se realizó en base a la metodología seguida por Chapman et. al. (12) e ilustrada en el A.O.A.C. (4).

a) Preparación de las dietas. Para preparar las dietas se utilizó concentrado proteico de alfalfa, concentrado -- proteínico de ajonjolí y la mezcla de ambos en relación de proteína 30%:70% respectivamente. Estos materiales suministraron la fuente de proteína. Se elaboraron dietas conteniendo 10% - de proteína provenientes de los materiales de estudios, además de una dieta control al 10% de proteína proveniente de la Caseína. La fórmula empleada en la preparación fue la siguiente:

Ingrediente	Porcentaje
Proteína	10.0
Mezcla de sales	5.0
Aceite vegetal	8.0
Fibra cruda (celulosa)	1.0
Almidón de maíz	50.0
Azúcar refinada	25.0
Mezcla de vitaminas	1.0

Una vez elaboradas las dietas, se les determinó el contenido de nitrógeno para comprobar el nivel de proteína.

b) Determinación de la relación de eficiencia proteica (REP). Para determinar los valores de la relación de eficiencia proteica se utilizaron ratas recién destetadas (entre

21 y 23 días de nacidas) de la raza Wistar del Bioterio del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del I. P. N. Cada grupo estuvo integrado por 6 ratas machos colocados en una jaula individual con comida y agua "ad libitum". Se alimentaron con las dietas durante 28 días. Las ratas se pesaron cada semana y el alimento dos veces por semana. Para la determinación de la relación de eficiencia proteica (REP), se efectuó el siguiente cálculo:

$$R. E. P. = \frac{\text{Peso ganado en gramos}}{\text{Peso de proteína ingerida en gramos}}$$

13. DETERMINACIÓN DE LISINA DISPONIBLE.

Se procedió de acuerdo al método reportado por Kakade (22).

Se colocaron 10 mg. de muestra finamente molida en un tubo de ensayo; se le agregó 1 ml. de solución al 4% de NaHCO_3 (pH = 8.5); posteriormente se adicionó 1 ml. de solución de ácido 2,4,6 - trinitobencensulfónico (TNBS) al 0.1% preparada recientemente, el sistema se colocó en baño María a 40°C, pasados 10 min., se agregó 1.0 ml. de TNBS al 1.0% conservándose en esas condiciones durante dos horas, durante las cuales se le añadieron tres veces 3 ml. de HCl concentrado. Los tubos deben taparse con un vial invertido; después los tubos se trataron en autoclave a 120°C por una hora; se dejaron enfriar a temperatura ambiente, se le adicionaron 5 ml. de agua destilada (en caso

de que exista material en suspensión, se procede a filtrar). El contenido de cada tubo se transfirió a un embudo de separación y se le agregan 10 ml. de ether etílico; se agitó para efectuar la extracción, se elimina el éter de la fase acuosa y ésta es leída a 546 nm. de longitud de onda, contra un blanco sometido al mismo procedimiento con la salvedad de que se le agrega el HCl antes que el TNBS.

El contenido de lisina disponible puede ser calculado de una curva patrón obtenida con varios niveles de lisina sometida al mismo procedimiento (22).

RESULTADOS.

Se realizaron experimentos tendientes a encontrar las -- condiciones óptimas de extracción de proteína, variando el pH de floculación considerando que se pretende conservar la viabilidad de uso de los pigmentos, dentro del esquema de procesamiento PRO-XAN, la tabla III y la gráfica I muestran los -- rendimientos obtenidos de acuerdo al pH de floculación. Se observa que el rendimiento de extracción baja conforme aumenta el pH; pero como se sabe que la viabilidad de uso de los pigmentos sólo es posible si no se someten a pH ácido, entonces se decidió por usar un pH=8.0 para la termo-coagulación. En el procesamiento material foliar para la obtención de concentrado proteico de alfalfa a ser usado en la elaboración de dietas; se obtuvieron rendimientos un poco más bajos, mismos - que se indican en la tabla IV.

La tabla I muestra los resultados del análisis bromatológico donde podemos observar la composición química de las mate rias primas y los productos obtenidos durante este trabajo. - En la tabla II se muestran los niveles de aminoácidos esenciales que presentan las materias y productos, aunados al perfil de aminoácidos esenciales determinados por la FAO/WHO; de esta tabla es importante observar los niveles de lisina y metionina que presentan los materiales, por lo que se muestran apar te en la tabla V.

En la tabla VI podemos observar los valores de digestibilidad "In Vitro" de concentrado proteico de alfalfa y ajonjolí comparados con los obtenidos para caseína, la siguiente tabla contiene datos respecto al porcentaje de lisina disponible para los concentrados proteicos de alfalfa y ajonjolí de donde se hace notorio el bajo porcentaje que presenta el concentrado proteico de alfalfa.

Se determinaron los niveles de ácido oxálico para la semilla de ajonjolí y sus derivados, los resultados se encuentran en la tabla VIII en la cual se nota la disminución del nivel de ácido oxálico en la harina descascarillada y el concentrado proteico de ajonjolí.

En la tabla IX se observa la composición porcentual de las dietas utilizada en los bioensayos, y la tabla XI detalla la composición en gramos para la obtención de 2,400 g. de dieta, cantidad calculada de acuerdo al número de individuos experimentales y tiempo de duración del experimento.

Finalmente en la tabla XII se observan los datos obtenidos en los bioensayos para la determinación de R.E.P. y su corrección con respecto a caseína ajustada a 2.50. Las figuras I y II muestran los diagramas de flujo para la obtención de concentrado proteico de alfalfa y ajonjolí, respectivamente,

los cuales se encuentran detallados en la sección de Métodos, la figura IV muestra el cruce de líneas de calificación química vs. porcentaje aportado por los concentrados proteicos de alfalfa y ajonjolí, donde se ve que el porcentaje de mezcla ideal para alcanzar la máxima complementación proteica, es de 30% de proteína de alfalfa y 70% de proteína de ajonjolí, con lo cual se alcanza la máxima calificación química posible para los aminoácidos lisina y metionina (aproximadamente 70), con respecto al perfil de aminoácidos esenciales de la FAO (1973).

En la figura V se observa el incremento en peso (promedio por lote) en ratas de laboratorio a través del tiempo de experimentación, mientras que en la figura VI podemos ver el peso de alimento consumido a través del mismo período de tiempo.

La figura VII es tocante al peso de alimento consumido por período semanal.

Por último la figura VIII muestra el comportamiento de la relación de eficiencia proteica (REP) por lote de acuerdo a la dieta y a través del período de experimentación.

ANALISIS BROMATOLOGICO

Tabla I

Producto Análisis	Harina de Alfalfa	Concentrado Proteico de Alfalfa	Semilla de Ajonjolí Entera	Harina de Ajonjolí	Concentrado Proteico de Ajonjolí
% Proteína (N x 6.25)	20.7	62.0	19.5	42.2	48.4
% Fibra cruda	16.8	5.0	17.4	9.0	9.5
% Extracto etéreo	4.4	1.6	41.7	3.3	7.0
% Cenizas	12.9	2.9	9.3	10.0	4.0
% Humedad	6.3	7.2	0.7	4.7	3.0
* % Carbohidratos	38.9	21.3	10.7	30.7	28.1

* Por diferencia.

AMINOGRAMAS (G/100 G. DE PROTEÍNA)

Tabla II

Producto Aminoácido	Harina de Alfalfa	Concentrado Proteico de Alfalfa	Harina de Ajonjolí	Concentrado Proteico de Ajonjolí	Patrón FAO-WHO (1973)
Lisina	5.6	7.6	2.4	2.3	5.5
Metionina	1.6	1.8	2.5	2.7	3.5+cist.
Treonina	6.0	7.7	3.4	3.4	4.0
Valina	7.4	8.6	2.9	2.6	5.0
Isoleucina	6.8	7.3	2.4	2.6	4.0
Leucina	11.0	13.8	6.5	7.1	7.0
Tirosina	6.2	5.7	3.4	3.2	6.0+fenil- alanina
Fenilalanina	9.1	8.5	4.0	3.8	

RENDIMIENTOS DE EXTRACCION DE PROTEINA DE ACUERDO AL PH
DE COAGULACION EN PROCESO

PRO - XAN

Tabla III

pH	Rendimiento (%)
4.5	38.0
6.0	30.4
7.0	25.0
8.0	21.7
9.0	13.5

RENDIMIENTOS (PORCENTAJE) DE PROTEINA RECUPERADA

Tabla IV

Producto	Rendimiento (%)
C. P. Alfalfa	17.2
C. P. Ajonjolí	53.8

NIVELES DE LISINA Y METIONINA
EN LOS PRODUCTOS OBTENIDOS
(G/100 G. DE PROTEÍNA)

Tabla V

Aminoácido	C. P. Alfalfa	C. P. Ajonjolí
Metionina	1.8	2.7
Lisina	7.6	2.3

VALORES DE DIGESTIBILIDAD* OBTENIDOS (%)

Tabla VI

Producto	Digestibilidad* (%)
C. P. Alfalfa	78.5
C. P. Ajonjolí	82.5
Caseína	96.3

* "In vitro"

NIVELES DE LISINA DISPONIBLE

Tabla VII

Producto	Lisina Disponible*
C. P. Alfalfa	28.9
C. P. Ajonjolí	87.4

* Como porcentaje del total de lisina.

NIVELES DE ACIDO OXALICO DETERMINADOS

Tabla VIII

Producto	% Acido Oxálico
Harina de ajonjolí*	1.35
C. P. de ajonjolí	1.50
Semilla de ajonjolí	3.22
Pasta residual de ajonjolí	6.20

* Descascarillada y desengrasada.

COMPOSICION DE LAS DIETAS UTILIZADAS
EN LAS PRUEBAS BIOLOGICAS

Tabla IX

Componentes	Porcentajes
Proteínas	10.0
Mezcla de sales minerales	5.0
Aceite vegetal	8.0
Fibra cruda (celulosa)	1.0
Almidón de maíz	50.0
Azúcar refinada	25.0
Mezcla de vitaminas	1.0

COMPOSICION DE LA MEZCLA DE SALES MINERALES
UTILIZADA EN LAS DIETAS PARA PRUEBAS BIOLOGICAS

Tabla X

Sales Minerales	Cantidad (g)
Cloruro de sodio	139.3
Fosfato monobásico de potasio	389.0
Sulfato de magnesio anhidro	57.3
Carbonato de calcio	381.4
Sulfato ferroso, 7H ₂ O	27.0
Sulfato de manganeso, H ₂ O	4.01
Yoduro de potasio	0.79
Sulfato de zinc, 7H ₂ O	0.548
Sulfato cúprico, 5H ₂ O	0.477
Cloruro de cobalto, 6H ₂ O	0.023

Cantidad para hacer 1000 g de mezcla de sales minerales.

COMPOSICION (G) DE LAS DIETAS UTILIZADAS
EN LA DETERMINACION DE R. E. P.

Tabla XI

Producto/ Dieta	C. P. Ajonjolí	C. P. Alfalfa	Mezcla (70% - 30%)
C. P. Ajonjolí	495.9	---	347.1
C. P. Alfalfa	---	387.1	116.1
Aceite	157.3	185.8	165.8
Fibra	---	4.6	---
Sales Minerales	100.2	108.8	102.7
Almidón	1081.8	1125.9	1096.1
Zacarosa	540.9	562.9	548.0
Vitaminas	24.0	24.0	24.0
T o t a l	2,400.1	2,399.2	2,400.0

RELACION DE EFICIENCIA PROTEICA (REP)

Tabla XII

Producto	R.E.P.	R.E.P. (corregido)
Caseína	3.28	2.50
C. P. Alfalfa	1.68	1.28
C. P. Ajonjolí	1.14	0.87
Mezcla Proteica	1.72	1.31

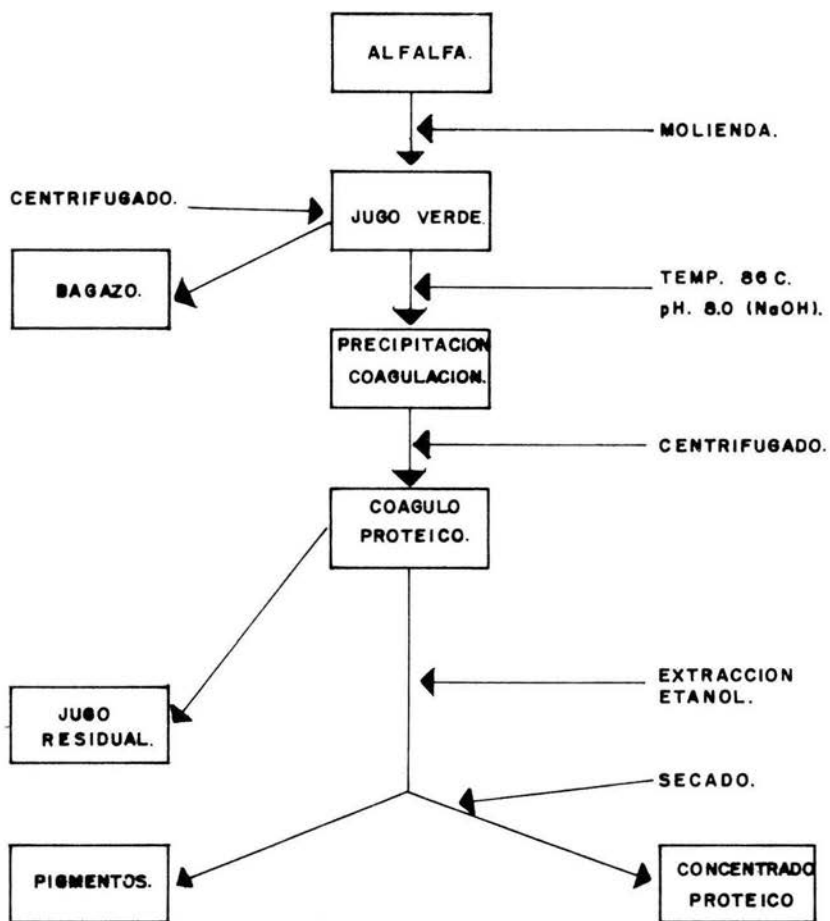


Fig. I. Proceso PRO-XAN. (MODIFICADO) para la obtención de concentrado protéico foliar de alfalfa.

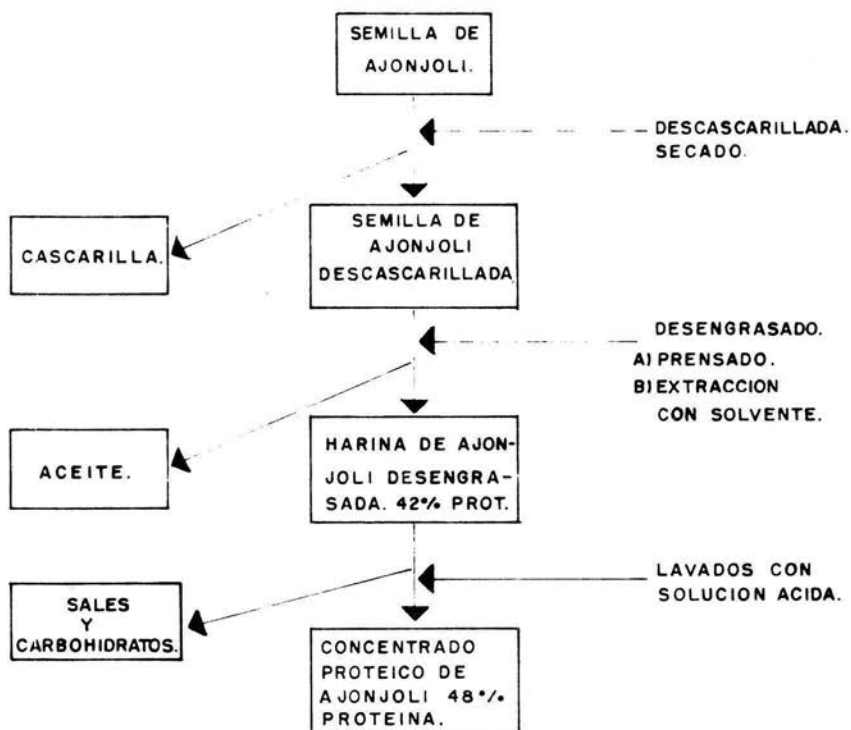


Fig. II. Diagrama de flujo para la obtención de concentrado protéico de semilla de ajonjolí.

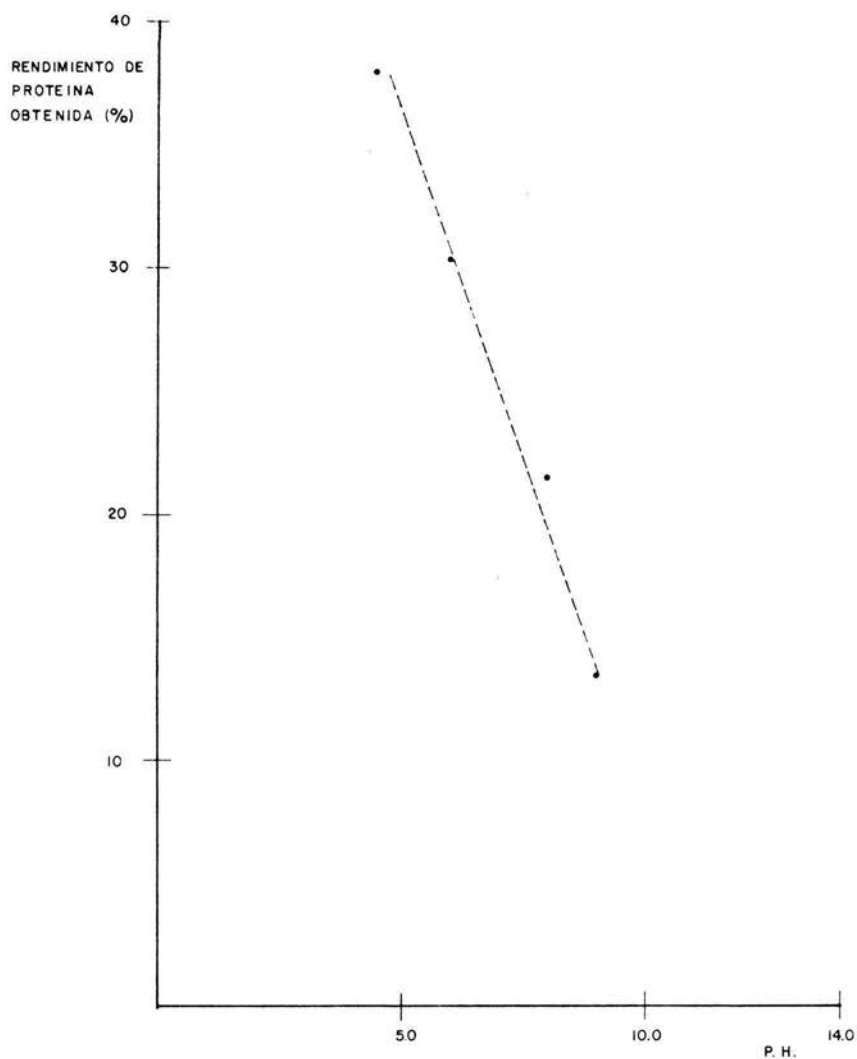


FIG. III. RENDIMIENTO DE PROTEINA OBTENIDA (PROTEINA—PROTEINA) DEL MATERIAL FOLIAR DE ALFALFA POR PROCESO PRO-XAN DE ACUERDO AL P.H.

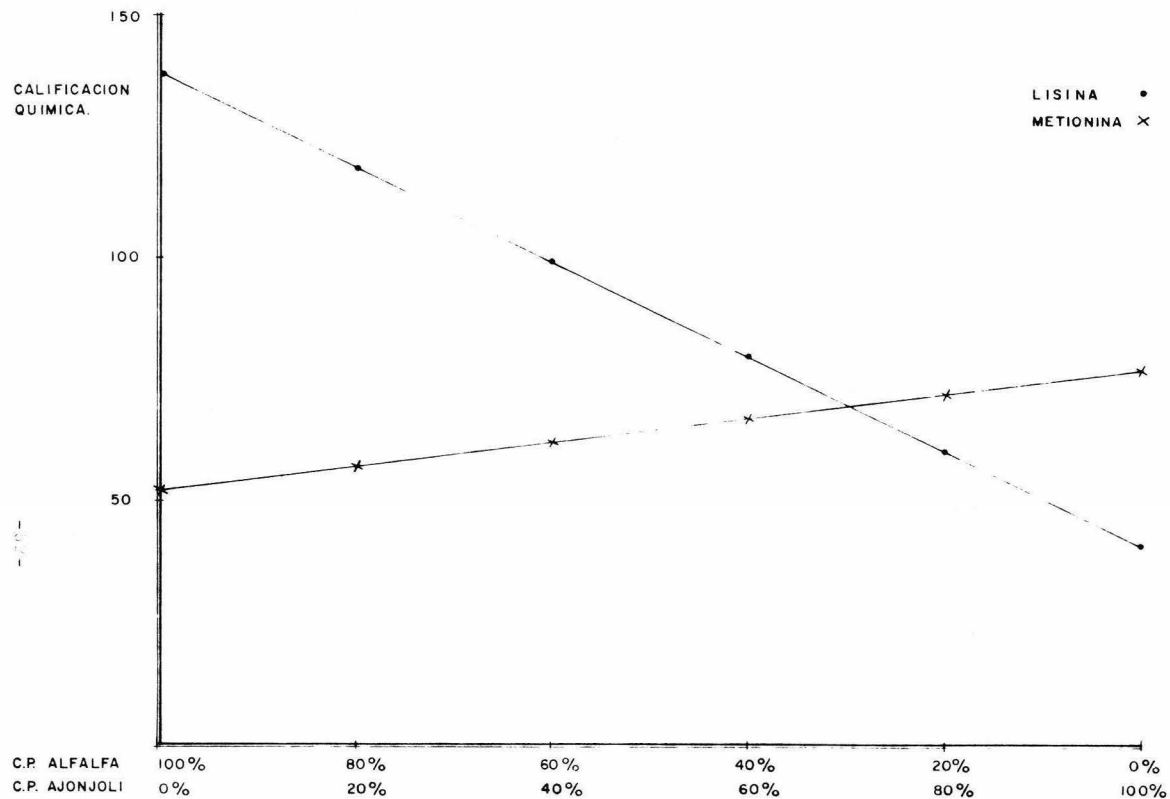


Fig. IV. Calificación química de acuerdo a la FAO/WHO (1973) en relación a Lisina y metionina, al variar las proporciones de mezcla de concentrado protéico de alfalfa y concentrado protéico de ajonjolí.

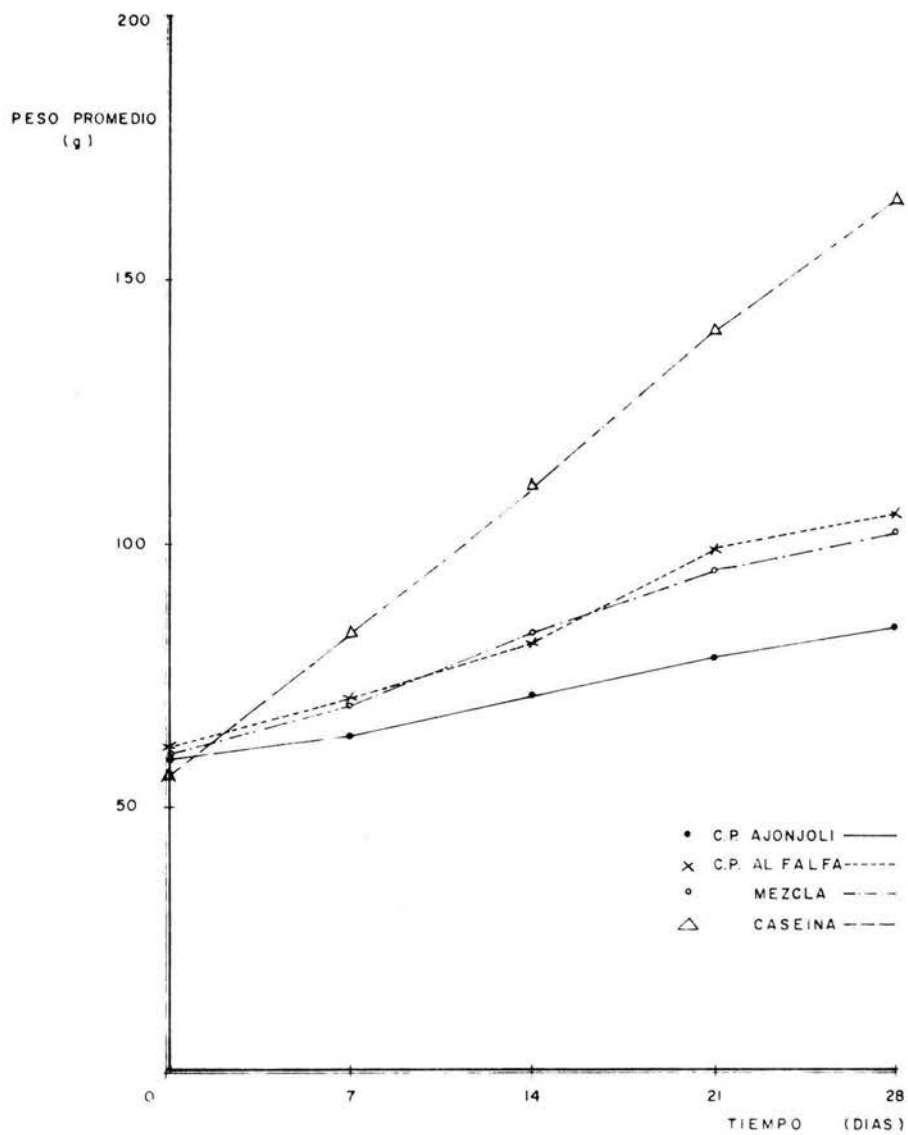


Fig. V. Aumento de peso promedio (por lote) en animales de laboratorio, contra el tiempo de acuerdo a la dieta suministrada.

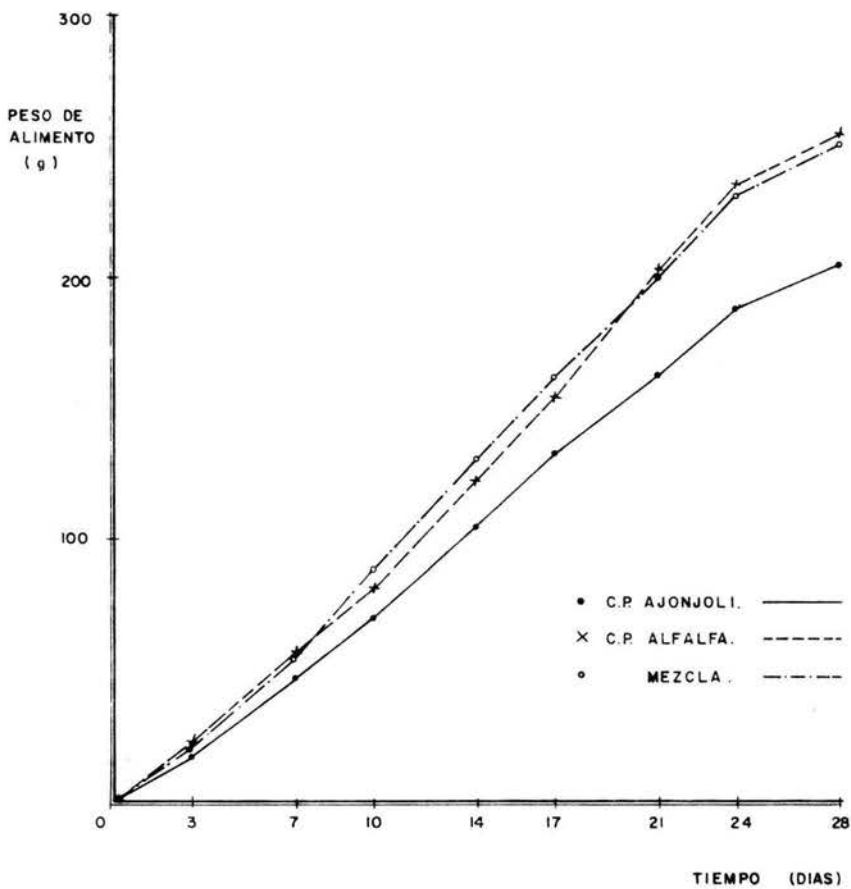


Fig. VI. Peso de alimento consumido promedio (por lote) en Ratas Wistar.

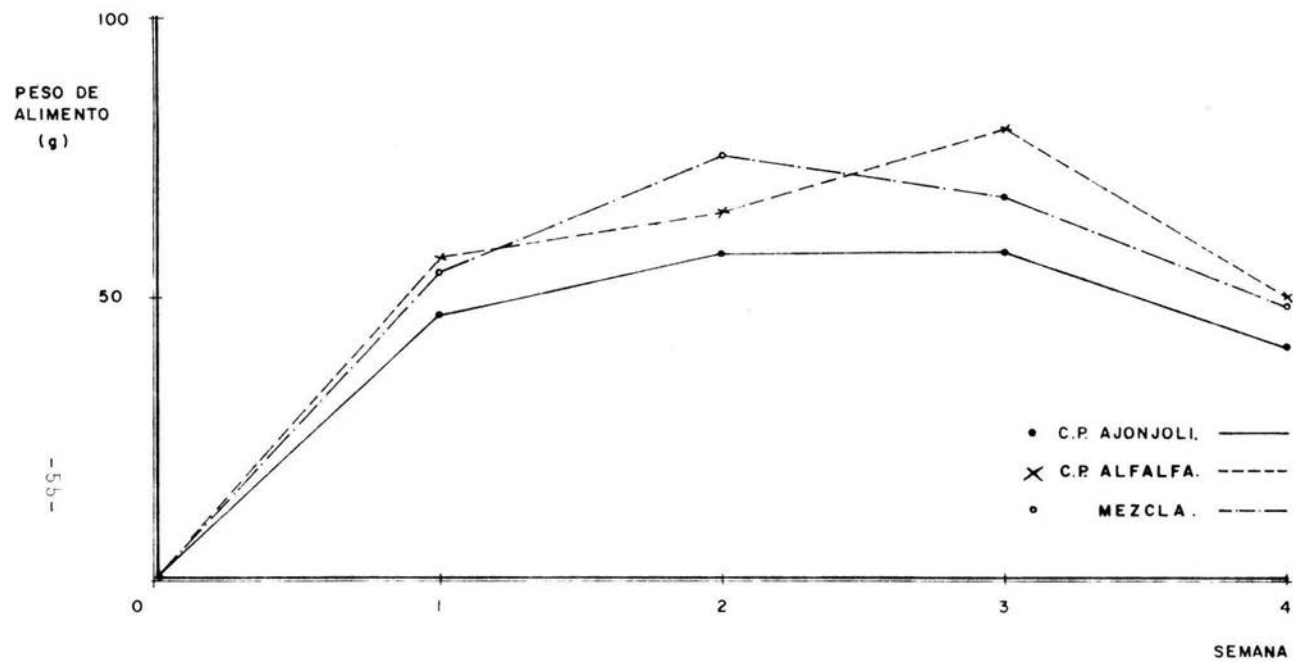


Fig. VII. Peso de alimento consumido por periodo semanal.

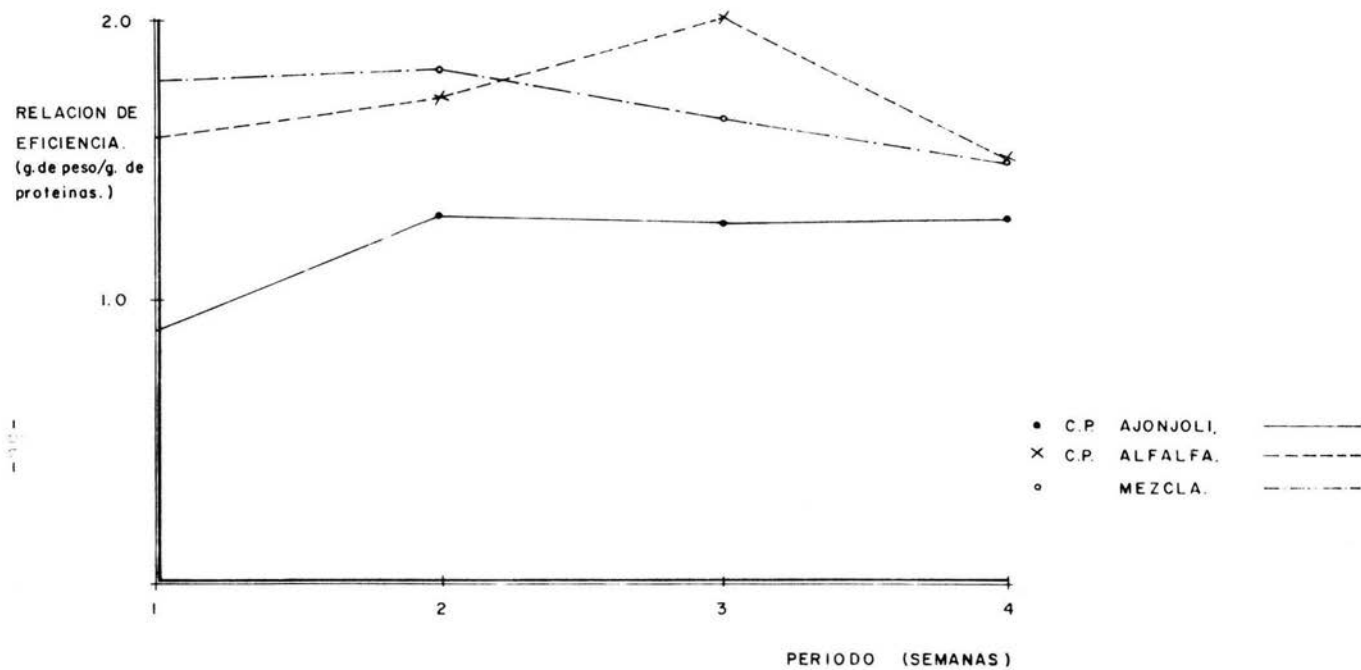


Fig. VIII. Relación de eficiencia protéica (REP.) en lotes de Ratas Wistar de acuerdo a la dieta.

DISCUSIÓN DE RESULTADOS:

Se incrementó en 200% el contenido de proteína en la obtención del concentrado proteico de alfalfa y en 150% en el concentrado proteico de ajonjolí, con relación al contenido en las materias primas; por otro lado, se redujo el contenido de fibra cruda al 30% y 50%, respectivamente, con lo cual se obtiene lo que en principio se había propuesto con respecto a la adecuación de las materias primas.

Se obtuvieron rendimientos de 17% y 54% aproximadamente para los concentrados proteicos de alfalfa y ajonjolí, respectivamente, lo que aparentemente es satisfactorio, aunque de la experiencia se hace evidente que es posible incrementarlos.

Los niveles de lisina y metionina corresponden a los esperados de acuerdo con referencias bibliográficas, aunque es menester mencionar los bajos valores de lisina disponibles encontrados sobre todo con respecto al concentrado proteico de alfalfa.

Los valores de digestibilidad "in vitro" son aceptables, considerando que corresponden a más del 80% del valor encontrado para la caseína.

El nivel de ácido oxálico se redujo en casi el 60% en la harina y el concentrado de ajonjolí con respecto al contenido de ácido oxálico en la semilla entera.

Respecto a la relación de eficiencia proteica (R.E.P.) encontrada para la mezcla proteica, superó en 73% y 2% a la REP determinada para los concentrados proteicos de ajonjolí y alfalfa respectivamente, se considera que los valores son bajos o por lo menos, no era lo que se esperaba de acuerdo a consideraciones bibliográficas; y esto quizá pueda ser atribuido a los bajos niveles de lisina disponible encontrados y probablemente a muchos otros factores. Parece ser que para poder aducir razones concretas al respecto, hacen falta datos sobre el particular.

CONCLUSIONES:

De la tabla I podemos observar que se obtienen condiciones deseables en la adecuación de las materias primas después del procesamiento para la obtención de los concentrados proteicos, como son el aumento del contenido de proteína, disminución de los niveles de fibra cruda, extracto etéreo, cenizas, los carbohidratos disminuyen poco en el C. P. de alfalfa y aumenta en el C. P. de ajonjolí.

En la tabla II se ve que los valores de contenidos de aminoácidos corresponden a los citados en la bibliografía, de tal modo que son satisfactorios.

En la tabla III observamos los rendimientos de proteína en el procesamiento de la alfalfa, de acuerdo al pH de precipitación y se nota la diferencia entre el pH ácido y el alcalino; esto puede ser justificado si consideramos que las condiciones de alcalinidad que fueron usadas en este procesamiento, no propician la descomposición de los pigmentos que se encuentran en la alfalfa de tal modo que se hace viable su recuperación.

En la tabla IV se muestran los rendimientos de proteína extraída de las materias primas, los cuales son aparentemente

satisfactorios si se comparan con datos de trabajos similares citados en la bibliografía.

La tabla V muestra los niveles de los aminoácidos especialmente involucrados en la complementación proteica que se pretendía en este trabajo, y que son acordes con los bibliográficos.

De la tabla VI podemos ver que las condiciones físico-químicas involucradas en los procesos no afectan negativamente la digestibilidad enzimática "in vitro", ya que en ambos casos corresponde a más del 80% de los valores encontrados para caseína.

En la tabla VII se observa un punto importante en el bajo valor de lisina disponible del C. P. de alfalfa que, suponemos, puede tener una influencia decisiva en los valores de R.E.P. obtenidos en las pruebas biológicas.

Respecto a la disminución de ácido oxálico en ajonjolí, podemos considerar de la tabla VIII que son adecuados para los propósitos de este trabajo.

Finalmente de la tabla XII observamos que los valores de relación de eficiencia proteica (R.E.P.), ajustados a caseína

2.50, parecen indicar más un enriquecimiento proteico del ajonjolí, con proteínas de alfalfa, que una complementación de ambas especies proteicas.

Aquí parece menester mencionar que es necesario conocer - más sobre las condiciones óptimas de extracción en los procesos de obtención de los concentrados proteicos para mejorar la calidad de los productos a obtener.

Esto último hace referencia a las condiciones físico-químicas involucradas en la extracción de proteínas, y creemos - que se requiere hacer una evaluación de la importancia individual de cada uno de esos factores para el establecimiento de esas condiciones óptimas.

El planteamiento de lo anterior es consecuencia de que se tiene aún la idea de que teóricamente la complementación de estas dos proteínas, es atractiva.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Akpapunam, M. A. et. al. (1981). Protein supplementation of cowpeas with sesame and watermelon seed. J. Food Sci. 46: 960-961.
- 2.- Altschul, A. M. (1974). New protein in food. Vol. 1-A Technology Academic Press. New York, U. S.A.
- 3.- Anuario Estadístico de la Producción Agrícola. 1980. E. U. M. SARH-DGEA.
- 4.- Association of Official Analyst Chemist. (1970). Of ficial Methods of Analysis. 11 Ed. Washington, D. C. U. S. A.
- 5.- Báez, M. et. al. (1980). Elaboración de una harina de ajonjolí. Evaluación Biológica y su Posible Uso como Alimento Humano. Rev. Technol. Aliment. XVI (5).
- 6.- Boloorforooshan, M. et. al. (1979). Protein supplementation of navy beans with sesame. J. Food Sci. 44 - (2): 390-391.

- 7.- Borgtrom, G. (1974). The food population dilemma. AMBIO. Royal Swedish Academy of Sciences. 5: 3-4.
- 8.- Bressani, R. (1975). Calidad proteínica de la soya y su efectividad suplementaria. Presentado en la Conferencia Latinoamericana sobre la Proteína de Soya. (118-129) México, D. F.
- 9.- Bressani, R. (1971). Fuentes vegetales ricas en proteínas para consumo humano en la América Latina. Technol. Aliment. 6 (3): 29-43.
- 10.- Brito, E. J. (1981). Usage of sesame as a source of protein for human consumption. Diss. Abstr. Int., B, 41 (10), 3726.
- 11.- Carroad, P. A. (1981). Optimization of cell disruption for alfalfa leaf protein concentration (PRO-XAN) production. J. Food Sci. 46: 383-386.
- 12.- Chapman, D. G. (1979). Evaluation of protein in foods. A method for the determination of protein efficiency ratios. Can. J. Biochem. Physiol. 37: 679-686.
- 13.- Cheeke, P. R. (1977). Freeze, dried, and commercially

prepared alfalfa protein concentrate, evaluation with rats and swine. J. Anim. Sci. 44 (5): 772-777.

- 14.- Costes, C. (1981). Proteines foliaires et alimentation. Gauthier Villars. Paris, France.
- 15.- Durán, E. (1972). Aspectos del estado nutricional de la República Mexicana. Tecnol. Aliment. 7 (6): - 272-291.
- 16.- Eheart, J. F. (1962). A statistical study of a proposed assay method for oxalates in plants. J. A.O.A.C. 45 (1).
- 17.- Gastélum, M. G. (1979). Reducción del contenido de ácidos nucleicos de levadura y su comportamiento en mezcla con aislado proteínico de ajonjolí. Tesis de Maestro en Ciencias. Departamento de Biotecnología y Bioingeniería. CINVESTAV-IPN.
- 18.- Hanczakowsky, P. (1979). Nutritive value of leaf protein coagulum and cereals mixtures. Anim. Feed Sci. Technol. 4: 91-96.

- 19.- Hanna, M. A. et. al. (1980). Expression of alfalfa juice. J. Agric. Food Chem. 28 (6): 1212-1216.
- 20.- Jaffe, W.G. (1970). El posible uso de la harina de ajonjolí para fines comestibles. Arch. Latinoam. Nutr. 21 (1): 31-48. ✓
- 21.- Juárez, J. A. (1982). Diseño de un floculador de proteína foliar solubilizada. Tesis de Ingeniero-Químico. ESIQUIE-IPN.
- 22.- Kakade, M. I. (1969). Determination of available lysine in proteins. Ann. Biochem. 27: 273-280.
- 23.- Kenneth, W. (1976). New Technology in Oilseed Proteins. J. Am. Oil Chem. 53: 327-330.
- 24.- Kinsella, J. E. (1979) Leaf proteins for foods. J. Am. Oil Chem. Soc. 56: 471.
- 25.- Kirk-Othmer. (1980). Encyclopedia of chemical technology. 3a. Ed. Vol. 11. John Wiley and Sons. -- London, England.

- 26.- Knuckles, B. E. et. al. (1982). Functional properties of edible protein concentrates from alfalfa. J. Agric. Food Chem. 30: 748-752.
- 27.- Kohler, G. O. et. al. (1977). Edible protein from leaves. Food Technol. 191-195.
- 28.- Latta, M. et. al. (1980). A simple and rapid determination for phitrate colorimetric, J. Agric. Food Chem. 28: 1313-1315.
- 29.- Lawrie, R. A. (1970). Protein as human food. Butterworth and Co. (Publishers) Ltd. London, England.
- 30.- Lyon, c. K. (1971). Sesame: current knowledge of composition and use. J. Am. Oil Chem. Soc. 49: 245-249.
- 31.- Mayer, J. (1976). The dimensions of human hunger. - Sci. Am. 235 (3): 40-49.
- 32.- Meyer, E. W. (1971). Oilseed concentrate and isolate. J. A.O.A. C. 48: 484-488.

- 33.- Olivas, R. (1979). Estudio sobre la obtención de un aislado proteínico a partir de pasta residual de girasol. Tesis de Maestro en Ciencias. Departamento de Biotecnología y Bioingeniería. CINVESTAV-IPN.
- 34.- Pirie, N. W. (1971). Leaf protein. Blackwell Scientific Publications. Oxford, England.
- 35.- Pirie, N. W. (1979). Potential for leaf protein as human food. J. Am. Oil Chem. Soc. 56: 472.
- 36.- Rivas, R. N. (1981). Nitrogen extractability of sesame seed and the preparation of two protein isolate. J. Sci. Food Agric. 32: 565-571.
- 37.- Sambucetti, M. E. (1976). Enriquecimiento de harina de trigo con harina de soya y girasol para la obtención de productos de panadería. Arch. Latinoam. Nutr. 353-364.
- 38.- Van Atta, G. R. (1961). Determination of saponins in alfalfa. J. Agric. Food Chem. 9 (1): 77-79.
- 39.- Van de Kamer, J. H. et. al. (1952). Rapid determination of crude fiber in cereals. Cereal Chem. XXIX (4).

- 40.- Vinconneau, H. F. (1979). Processing of leaf protein into food ingredients. J. Am. Oil Chem. Soc. 56: 469-470.
- 41.- Wild, A. C. (1977). Proteínas heterodoxas, variedades de maíz, semillas de oleaginosas y hojas verdes. - Rev. Tecnol. Aliment. 12: 96-100.
- 42.- Wolzak, A. et. al. (1981). Protein quality of vegetable protein as determined by traditional biological -- methods and rapid chemical assay. J. Agric. Food Chem. 29: 1063-1068.
- 43.- Wortman, S. (1976). Food and Agriculture. Sci. - Am. 235: 3139.