



99
21

**UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO**

FACULTAD DE QUIMICA



**EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUIMICA**

**OBTENCION DE LA PROTEINA DE PASTA DE
SOYA POR TRATAMIENTO CON ETANOL Y
SU UTILIZACION EN UN SUSTITUTO DE
LECHE PARA BECERROS**

T E S I S
Que para obtener el titulo de
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA
p r e s e n t a
JUANA DE DIOS VALERIO ORTEGA



México, D. F.

1997

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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: Prof. Angela Sotelo López
Vocal: Prof. Pedro Valle Vega
Secretario: Prof. Jorge Luis Rosado Loria
1er. Suplente: Prof. Lucia Cornejo Barrera
2o. Suplente: Prof. Elsa Concepción Muñoz Lozano

LUGAR DONDE SE DESARROLLO LA TESIS:

El presente trabajo se realizó en las instalaciones de los Departamentos de Fisiología de la Nutrición y de Nutrición Animal de la División de Nutrición Experimental y Ciencia de los Alimentos del Instituto Nacional de la Nutrición "Salvador Zubirán" y en el Laboratorio de Ingeniería Química de la Facultad de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México.

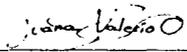
Director de Tesis:


Dr. Jorge Luis Rosado Loria

Supervisor Técnico:


Dra. Ma. Esther Ortega Cerrilla

Sustentante:


Juana de Dios Valerio Ortega

A MIS PADRES: NATALIO VALERIO ALVAREZ Y GUADALUPE ORTEGA DE VALERIO. PORQUE LO QUE SOY ES POR USTEDES Y NO LO HUBIERA LOGRADO SIN SU APOYO Y COMPRESION.

A MI ESPOSO: JOSE ANTONIO SANCHEZ Y A MI HIJO MARCO ANTONIO CON TODO MI AMOR.

A MIS HERMANAS Y SOBRINOS CON CARINO.

A TODAS LAS PERSONAS QUE DE UNA U OTRA MANERA HICIERON POSIBLE LA REALIZACION DE ESTA TESIS, ESPECIALMENTE A LA QUIMICA GLADYS LOPEZ POR SU AYUDA TECNICA, Y A LOS DOCTORES JORGE LUIS ROSADO Y MARIA ESTHER ORTEGA POR SU TIEMPO DEDICADO A LA REVISION DE LA PRESENTE, EL CUAL ES INVALUABLE.

MUCHAS GRACIAS.

CONTENIDO

ii

	Página
Agradecimientos.....	i
Índice General.....	ii
Índice de Cuadros.....	iv
Índice de Figuras.....	v
1. Introducción.....	1
1.1 Antecedentes.....	1
1.1.1 Fisiología digestiva del becerro.....	1
1.1.1.1 Desarrollo del estómago del becerro prerrumiante.....	2
1.1.1.2 Establecimiento de las poblaciones microbianas en el rumen.....	3
1.1.1.3 Actividad emzimática y digestión de nutrientes.....	7
1.1.1.4 Digestión de carbohidratos.....	7
1.1.1.5 Digestión de proteínas.....	11
1.1.1.6 Digestión de grasas.....	17
1.1.2 Sustitutos de leche para becerros.....	20
1.1.2.1 Desarrollo de sustitutos de leche.....	20
1.1.2.2 Uso de proteínas de soya en sustitutos de leche.....	21
1.1.2.3 Niveles de proteína en sustitutos de leche.....	27
1.1.2.4 Niveles de grasa en sustitutos de leche.....	27

1.1.2.5 Medicamentos en sustitutos de leche.....	28
1.1.3 Características de la soya.....	28
1.1.3.1 Características de la planta y la semilla.....	28
1.1.3.2 Factores antinutricionales en la soya.....	32
1.1.3.3 Producción nacional de frijol soya.....	36
1.1.3.4 Productos obtenidos a partir de la soya.....	36
1.2 Objetivos.....	41
1.2.1 General.....	41
1.2.2 Particulares.....	41
2. Desarrollo experimental.....	42
3. Resultados y discusión.....	51
4. Conclusiones y recomendaciones.....	61
5. Bibliografía.....	62
6. Apéndice.....	74

INDICE DE CUADROS

	Página
Cuadro 1. Crecimiento del estómago del bovino expresado como porcentaje del estómago total.....	4
Cuadro 2. Bacterias anaerobias y aerobias facultativas aisladas del rumen de becerros durante la primera semana después del nacimiento.....	6
Cuadro 3. Principales enzimas digestivas encontradas en el becerro prerrumiante.....	8
Cuadro 4. Digestibilidad de carbohidratos en becerros jóvenes alimentados con leche.....	10
Cuadro 5. Digestibilidad de algunos carbohidratos por el becerro prerrumiante.....	12
Cuadro 6. Digestibilidad de las proteínas por el becerro prerrumiante a partir del primer mes de edad.....	14
Cuadro 7. Digestibilidad de algunas fuentes de grasa usadas en la alimentación de becerros prerrumiante.....	18
Cuadro 8. Contenido de aminoácidos en la harina de soya.....	31
Cuadro 9. Producción nacional de soya.....	37
Cuadro 10. Formulación del sustituto de leche.....	44
Cuadro 11. Complejo vitamínico utilizado.....	45
Cuadro 12. Análisis químico proximal de las materias primas utilizadas para elaborar el sustituto de leche (SL).....	52
Cuadro 13. Factores antinutricionales determinados en la harina de pasta de soya (HPS), concentrado proteínico de pasta de soya (CPPS) y en el sustituto de leche (SL).....	54
Cuadro 14. Análisis microbiológico de la harina de pasta de soya (HPS), concentrado proteínico de pasta de soya (CPPS) y del sustituto de leche (SL).....	56
Cuadro 15. Características fisicoquímicas del sustituto de leche.....	58

INDICE DE FIGURAS

Página

Figura 1. Partes de la planta de soya y su utilización.....	39
Figura 2. Diagrama general para la obtención del sustituto de leche.....	46

1 INTRODUCCION

1.1 ANTECEDENTES

En México es cada vez más urgente incrementar la producción de alimentos debido al constante crecimiento de la población. La leche es un alimento de gran valor nutritivo en la alimentación humana, especialmente para los niños. Sin embargo, en nuestro país su producción es cada vez menor, lo que ha hecho necesario recurrir a la importación de leche en polvo y de ganado lechero, ocasionando problemas a la industria lechera nacional, además de fuga de divisas por concepto de importaciones.

Las importaciones de leche en polvo han aumentado en volumen (196%) y en su precio de adquisición (134%), en los últimos 10 años (FIRA, 1994), siendo uno de los principales problemas de la industria lechera. La incapacidad para producir suficientes vaquillas de reemplazo, debido a los altos costos que representa, hace necesario desarrollar sistemas de crianza de becerras adecuados, ya que son una parte muy importante en la producción de leche. En este aspecto, la nutrición y sanidad son factores muy importantes para que un sistema de producción sea exitoso, ya que la etapa como animal prerrumiante es una de las más críticas.

1.1.1 FISIOLOGIA DIGESTIVA DEL BECERRO PRERRUMIANTE

El éxito en la alimentación y el manejo de los becerros prerrumiantes se mide por la reducción de la mortalidad y por el crecimiento de los animales (Edwards, 1995). En una encuesta realizada en Pensilvania, en los EUA, se encontró que 53% de la mortalidad de los becerros ocurrió en la primera semana después del

nacimiento, con 30.6% de mortalidad total dentro del primer mes de vida (Heinrich et al., 1987). Bajo este esquema, es importante tomar en cuenta que tanto la anatomía como la fisiología de los becerros prerrumiantes condicionan la utilización de algunos ingredientes como fuente de nutrimentos para ellos. Así durante las primeras semanas de vida, los becerros presentan un comportamiento fisiológico del aparato digestivo semejante a un animal no rumiante, sólo que más limitado en su actividad enzimática (Olivares, 1991).

1.1.1.1 Desarrollo del estómago del becerro prerrumiante

Todos los órganos del tracto digestivo, a excepción del intestino delgado, aumentan de peso desde el momento de la primera diferenciación en el embrión hasta el animal adulto. Las pautas de crecimiento de los órganos digestivos, difieren poco en las primeras 2 a 4 semanas de vida. El crecimiento rápido del pre-estómago comienza en este momento si el animal recién nacido ha estado consumiendo alimentos sólidos (Church, 1988).

El desarrollo de los rumiantes jóvenes puede dividirse en tres fases: a) 0-3 semanas de edad, fase de no rumiantes; b) 4-8 semanas de edad, fase de transición; y c) a partir de las 8 semanas, como rumiantes adultos. Sin embargo, la rapidez del desarrollo del pre-estómago (retículo rumen), incluso en condiciones de pastoreo, dependerá de la cantidad de leche consumida por el recién nacido con respecto a sus necesidades para el crecimiento y de la disponibilidad y consumo de alimentos fácilmente digestibles

(Church, 1988). Al nacimiento en el becerro, más del 50% del volumen total de los cuatro compartimentos estomacales (rumen, retículo, omaso y abomaso) lo ocupa el abomaso (Tomkins y Jaster, 1991). En el Cuadro 1 se presenta información acerca del crecimiento del estómago de los bovinos desde el nacimiento hasta la madurez (Church, 1988).

Los efectos estimulatorios de los ácidos grasos volátiles, principalmente acético, propiónico y butírico (AGV), en la proliferación celular epitelial del rumen parecen ser regulados por la insulina, la tasa de producción de ácido butírico en relación con los demás AGV es más importante que la cantidad total de ácido butírico producido para promover la proliferación de células epiteliales del rumen. Sin embargo, una mitosis acelerada de las células epiteliales por el butirato puede causar cambios en las estructuras microscópicas de la mucosa ruminal (Ruckebusch y Thivend, 1980). El desarrollo papilar dentro de rangos normales, no ha demostrado afectar la habilidad del becerro para digerir dietas basadas en concentrados y heno (Roy, 1980).

1.1.1.2 Establecimiento de las poblaciones microbianas en el rumen de becerros prerruminantes

Poco después del nacimiento, el rumen se coloniza por diversos microorganismos. Para el segundo día de vida, las bacterias anaerobias estrictas (Cuadro 2) son las que predominan. Alrededor del cuarto día de vida aparecen bacterias celulolíticas y metanogénicas. Los hongos anaerobios y los protozoarios ciliados se establecen alrededor del final de la primera semana, y durante la

Cuadro 1. Crecimiento del estómago del bovino expresado como porcentaje del estómago total.

Edad Semanas	Peso corporal (kg)	Reticulo-rumen		Omase		Abomaso	
		(g)	(%)	(g)	(%)	(g)	(%)
Nacimiento	24	95	35	40	14	140	51
2	26	180	40	65	15	200	45
4	33	335	55	70	11	210	34
8	43	770	65	160	14	250	21
12	60	1150	66	265	15	330	19
17	76	2040	68	550	18	425	14
Adulto	325	4540	62	1800	24	1030	14

Adaptado de Church (1988).

segunda y tercera semana respectivamente (Ruckebush y Thivend, 1980; Fonty y Gouet, 1988).

Durante la primera semana de vida, la microflora está compuesta principalmente por especies no presentes en la microflora del animal adulto. La cuenta de bacterias aerobias y anaerobias es 10 a 100 veces menor que la microflora anaerobia estricta contada en la primera semana de vida (Fonty y Gouet, 1988).

La colonización del rumen por hongos anaerobios también ocurre muy tempranamente, desde los 8 a 10 días después del nacimiento. Se encuentra principalmente el *Neocallimastix frontalis*, también se ha observado la presencia esporádica de *Sphaeromonas counis* en el rumen de becerros prerumiantes. Estos hongos pueden ser capaces de establecerse después de que el animal empieza a ingerir alimentos sólidos, por lo que la composición de la dieta es un factor importante para su desarrollo (Fonty y Gouet, 1988).

Los protozoarios ciliados aparecen después de las bacterias y los hongos, y raramente se encuentran antes de las dos semanas de edad. Además, se ha mostrado que su establecimiento está probablemente condicionado por la microflora, la cual les provee de un ambiente favorable para su desarrollo.

Otro factor esencial para el crecimiento de los protozoarios ciliados es de pH del rumen. A un pH menor de 6, los ciliados se encuentran solamente en números pequeños, principalmente cuando los animales se alimentan con dietas altas en concentrado. Un pH ligeramente menor de 6 favorece el desarrollo de *Entodinium*, y con un pH mayor de 6.5 se desarrolla una población mixta (Fonty y

Cuadro 2. Bacterias anaerobias y aerobias facultativas aisladas del rumen de becerros durante la primera semana de vida.

Bacterias anaerobias estrictas

- (1)
Bacteroides sp., *Butyrivibrio* sp., *Fusobacterium* sp.
- (2)
Bacteroides corrodens, *B. capillosus*, *B. clostridiiformis*, *B. pneumosintes*
Clostridium butyricum, *C. hastiforme*, *C. perfringens*
C. sartagoformum, *C. lentoputrescens*, *C. malenominatum*
Eubacterium lentum, *E. tortuosum*, *Fusobacterium nucleatum*

Bacterias aerobias y anaerobias facultativas

- (1)
 Coliformes, *Streptococcus* sp.
- (2)
Campilobacter faecalis, *Lactobacillus fermentum*
L. salivarius, *Staphylococcus epidermidis*,
Streptococcus bovis, *S. faecalis*, *S. faecium*,
S. equinus, *Escherichia coli*, *Klebsiella aerogenes*,
Proteus mirabilis

-
- (1) Bryant et al., 1958 (citado por Fonty y Gouet, 1988).
 (2) Jayne-Williams, 1979 (citado por Fonty y Gouet, 1988).

Gouet, 1988).

En conclusión, el rumen se coloniza rápidamente después del nacimiento, antes de que el órgano por sí mismo empiece a funcionar. El establecimiento del ecosistema del rumen es ordenado y progresivo y la mayoría de las poblaciones microbianas aparecen en una secuencia claramente definida (Fonty y Gouet, 1988).

1.1.1.3 Actividad enzimática y digestión de nutrientes

La actividad y cantidad de las enzimas digestivas secretadas por el animal determinan el tipo y cantidad de sustancias que pueden ser digeridas por el becerro joven. En el Cuadro 3 se presenta información sobre las enzimas que se encuentran en el becerro, los sustratos sobre los que actúan y los productos formados (Tomkins y Jaster, 1991).

Las secreción de enzimas está relacionada con la edad del becerro y la calidad del alimento ingerido. La actividad de la quimosina (renina), disminuye en el becerro prerrumiante con la edad, en tanto que la actividad de la pepsina tiende a incrementarse ligeramente. También el origen y procesamiento de las proteínas influye en la secreción de enzimas (Roy, 1980).

1.1.1.4 Digestión de carbohidratos

El becerro prerrumiante tiene una muy limitada habilidad para digerir carbohidratos, a excepción de la lactosa. La digestión de la sucrosa, maltosa, y almidón es muy baja o nula, en los primeros días de vida, como se ilustra en el Cuadro 4 (Huber, 1969; Tomkins y Jaster, 1991).

Cuadro 3. Principales enzimas digestivas encontradas en el becerro prerrumiante.

SUSTRATO	ENZIMA	LOCALIZACION	PRODUCTO
CARBOHIDRATOS			
Lactosa	Lactasa	I. delgado	Galactosa y glucosa
Almidón	Amilasa	I. delgado	No significativo antes de los 100 días de edad
Maltosa	Maltasa	I. delgado	Glucosa
PROTEINAS/POLIPEPTIDOS			
Caseína	Renina	Abomaso	Ruptura de polipeptidos en caseína
	Pepsina	Abomaso	Ruptura de enlaces peptídicos
	Tripsina	I. delgado	Ruptura de enlaces peptídicos adyacentes a arginina o lisina
	Quimotripsina	I. delgado	Ruptura de enlaces peptídicos
	Aminopeptidasas	I. delgado	Ruptura de peptidos
GRASAS			
Triglicéridos	Estereasa	Saliva y abomaso	Hidroliza C ₄ A C ₈
Triglicéridos	Lipasa	I. delgado	Di y monoglicéridos y ácidos grasos
Lecitina	Fosfolipasa A2	I. delgado	Lisolecitina

Tomkins y Jaster (1991).

La mucosa intestinal sólo absorbe monosacáridos, la hidrólisis del almidón se realiza por la enzima alfa-amilasa, la cual no es secretada por el becerro prerrumiante en la saliva, sino sólo por el páncreas (Hof, 1980). La habilidad del becerro recién nacido para digerir y absorber carbohidratos individuales ha sido ampliamente investigada, en el Cuadro 4 se resumen los resultados más relevantes (Hof, 1980).

El criterio para evaluar la habilidad del animal para digerir y absorber eficientemente los carbohidratos, es medir la disminución de los niveles de azúcares en la sangre. Becerros con una edad media de 22 días de edad (rango 11-30), mostraron una notable disminución en la concentración de azúcares después de ingerir lactosa y glucosa. Se han observado pequeños incrementos después de la ingestión de maltosa, sucrosa, y almidón, indicando una muy limitada utilización de estos carbohidratos (Tomkins y Jaster, 1991).

El becerro joven alimentado con leche tiene gran habilidad para absorber y digerir glucosa y galactosa, por lo que los niveles de consumo permitidos en esos animales son bastante altos, mientras que la digestión de otros carbohidratos es mucho menor (Hof, 1980).

Los microorganismos del ciego y del colon tienen también una función importante en la digestión de la sacarosa y de los productos amiláceos. Esta digestión microbiana es importante, a condición de que no sea excesiva y como consecuencia ocasione diarreas; al respecto, la lactosa, maltosa y glucosa tienen una digestibilidad muy elevada (96-99%). La digestibilidad de los

Cuadro 4. Digestibilidad de carbohidratos en becerros jóvenes alimentados con leche.

CARBOHIDRATO	PARAMETRO USADO PARA ESTIMAR LA DIGESTIBILIDAD		
	CRECIMIENTO	DIGESTIBILIDAD APARENTE	ACTIVIDAD ENZIMATICA
MONOSACARIDOS			
Glucosa	Resultados variables	Completa	---
Galactosa	---	Completa	---
DISACARIDOS			
Lactosa	Respuesta positiva alta	94-98%	Alta
Sucrosa	Negativo	70-90%	Ausente
Isomaltosa	---	---	Baja
POLISACARIDOS			
Almidón	Negativo	23-98% (promedio 70%)	Baja

Adaptado de Hof (1980).

almidones varía dependiendo de su origen, es decir los almidones de los cereales son más digeribles que los de los tubérculos (Cuadro 5). De la misma manera, los tratamientos aplicados a los alimentos (gelatinización, dextrinización, hidrólisis enzimática), también influyen en la digestibilidad y aprovechamiento de los mismos. La digestibilidad del almidón se incrementa conforme aumenta la edad del becerro, y disminuye si la proporción de almidón no procesado es superior a un 15% en el alimento (ICA, 1983).

Después de las dos semanas de edad y bajo el estímulo de la ingestión de sólidos, el animal desarrolla el retículo-rumen, donde se estableciera una microflora capaz de degradar la fibra (Beharka *et al.*, 1991). El establecimiento de esta microflora tiene gran importancia en el desarrollo funcional del rumen, en cuanto a la capacidad de utilizar alimentos con alto contenido de fibra. Un marcado incremento en la digestibilidad de la fibra cruda del heno se ha observado en el rumen de becerros a la semana después de iniciado el consumo de este forraje, obteniéndose valores de digestibilidad comparables a los de animales adultos, a los 50-60 días de edad. También se ha encontrado una elevación de la actividad celulolítica a los 2 días de iniciado el consumo de heno (ICA, 1983).

1.1.1.5 Digestión de proteínas

El becerro joven tiene enzimas capaces de digerir las proteínas de la leche. La digestión de las proteínas se inicia en el abomaso por la acción de la renina, pepsina y ácido clorhídrico

Cuadro 5. Digestibilidad de algunos carbohidratos por el becerro prerrumiante.

CARBOHIDRATO	CONTENIDO EN LA DIETA (% DE LA MATERIA SECA)	CDA (%)
Glucosa	17	99.0
Maltosa	17	96.9
Lactosa	38	99.3
Sacarosa	17	73.4
Almidones crudos:		
Maíz	17	91.6
Trigo	17	94.0
Arroz	17	92.9
Papa	17	59.2
Plátano	17	64.9
Almidones pregelatinizados:		
Papa	17	84.5
Dextrinas poco solubles:		
Maíz	17	92.3
Papa	17	84.5
Dextrinas completamente solubles:		
Maíz	17	76.9
Papa	17	77.4

CDA = Coeficiente de digestibilidad aparente.
INRA (1981).

(HCl). Estas enzimas hidrolizan rápidamente las cadenas específicas de péptidos actuando sobre fenilalanina y metionina en la k-caseína. Esta división de la k-caseína en presencia de calcio resulta en la formación del coágulo de la leche, lo cual es bien conocido, ya que altera la tasa de vaciado gástrico (Roy, 1980; Yvon y Pierre, 1987; Tomkins y Jaster, 1991). Petit *et al.* (1987) demostraron que al inhibir la formación del coágulo de la leche se modifica el flujo de los constituyentes de la fracción del suero. Para la coagulación de la leche el pH óptimo del abomaso es 6.5 para la renina, y 5.25 para la pepsina, mientras que el pH óptimo para la proteólisis es de 3.5 para la renina, y 2.1 para la pepsina. En los sustitutos de leche que contienen leche descremada en polvo severamente precalentada, proteína de pescado o harina de soya, se ha observado que disminuye la cantidad proteolítica en el abomaso (Roy, 1980; Tomkins y Jaster, 1991). En el Cuadro 6 se resume la digestibilidad de diferentes fuentes de proteína usadas en los sustitutos de leche para becerros prerruminantes (INRA, 1981).

Diversos autores han encontrado que la alimentación de becerros con proteínas no lácteas (pescado o soya), produce menos tripsina y quimotripsina, contenidas en el jugo pancreático e intestinal, que en aquellos becerros alimentados sólo con proteínas de leche (Garnot *et al.*, 1977; Khorasani *et al.*, 1989; Tomkins y Jaster, 1991), sin que se modifique la secreción de pepsina (Garnot *et al.*, 1977).

La sustitución de las proteínas lácteas por proteínas

Cuadro 6. Digestibilidad de las proteínas por el becerro prerrumiante a partir del primer mes de edad.

PRODUCTO	% NITROGENO TOTAL DEL ALIMENTO	DIGESTIBILIDAD APARENTE DEL N
Leche entera	100	97.0
Leche descremada	100	96.1
Lactosuero	100	94.3
Pescado hidrolizado	73	91.0
Soya:		
Cocida	75	74.2
Fermentada	77	75.9
Concentrada	78	79.6
Levaduras cultivadas en:		
Gas-aceite	71	84.4
Lactosuero	75	79.8
Papa	74	82.2

Adaptado por INRA (1981).

vegetales u otras proteínas animales para la elaboración de sustitutos lácteos para becerros lactantes, ha sido ampliamente revisada (Ramsey y Willard, 1975; Sedgman *et al.*, 1985a; Sedgman *et al.*, 1985b; Diaz-Castañeda y Brisson, 1987; Madrigal y Ortega, 1989; Mbugi *et al.*, 1989; Lalles, 1993; Knaus *et al.*, 1994; Lalles *et al.*, 1995a).

Entre las proteínas vegetales a la que se le ha dedicado mayor atención por su bajo costo y disponibilidad ha sido la proteína de soya (Madrigal y Ortega, 1989). Sin embargo, el crecimiento animal y la digestibilidad son generalmente menores que los observados usando sustitutos elaborados con suero de leche en polvo. Esta disminución de la digestibilidad de la proteína de soya, así como de la proteína de otras leguminosas, se debe a la presencia de factores antinutricionales tales como proteínas antigénicas, inhibidores de proteasas, polifenoles, oligosacáridos, fitatos, seponinas, lectinas y enzimas inhibitoras (Lalles, 1993).

Una característica de las proteínas vegetales es que generalmente no forman coágulo en el abomaso, por lo que no se hidrolizan fácilmente en el intestino como la proteína de la leche, y algunas de ellas poseen sustancias poco digeribles como los alfa-galactósidos. La falta de coagulación en el abomaso se manifiesta como una disminución en la digestibilidad del nitrógeno durante el primer mes de vida del becerro prerrumiante, lo que puede ocasionar una mayor incidencia de diarreas (Ruckbusch y Thivend, 1980). En forma práctica, se pueden mezclar proteínas de leguminosas con proteínas de suero de leche, en relación 2:1, para incluirlas en la

formulación de sustitutos de leche, presentándose bajas concentraciones de factores antinutricionales y antigénicos (Lalles, 1993).

Mbugi *et al.* (1989) reemplazaron el 30% de la proteína total del sustituto por concentrado de proteína de chícharo, observando que la utilización de los nutrientes y el crecimiento de los becerros prerrumiantes no disminuyó, pero cuando sustituyeron el 60% de la proteína láctea total se deprimió la digestibilidad de los nutrientes y el crecimiento de los animales.

Knaus *et al.* (1994) observaron que la proteína de soya en combinación con proteína de papa puede usarse para sustituir la proteína de suero de leche en polvo en los sustitutos de leche, sin encontrar efectos negativos en el desarrollo de becerros prerrumiantes.

Otra fuente de proteína que se ha usado para sustituir la proteína de leche, es la proteína de pescado en forma de harina y concentrado (Huber, 1975; Jenkins *et al.*, 1982; Guilloteau *et al.*, 1986; Díaz-Castañeda y Brisson, 1987). Es posible sustituir 67% de la proteína de leche descremada por proteína de pescado parcialmente hidrolizada, sin afectar las ganancias de peso y la salud de los becerros, aunque se disminuye la digestibilidad del nitrógeno (Díaz-Castañeda y Brisson, 1987).

Además de las proteínas vegetales y animales, se han utilizado proteínas provenientes de bacterias o levaduras (Sedgman *et al.*, 1985a, 1985b). En estos trabajos se ha observado que la adición de proteínas de células simples (proteínas de bacterias), en las

dietas de becerros prerruminates provoca una disminución en la secreción enzimática, secreción de ácidos y proteólisis enzimática. La reducción de la proteólisis está asociada con una más rápida salida de proteínas del abomaso, resultando en una disminución del tiempo en que se realiza la proteólisis (Sedgman *et al.*, 1985a).

De la misma manera, Sedgman *et al.* (1985b) reportaron que la adición de más de 100 g de proteína bacteriana/kg de dieta seca en sustitutos de leche, afecta la digestibilidad de los nutrientes y crecimiento de becerros prerruminantes. Esta reducción del desarrollo se ha asociado con la disminución de la secreción enzimática abomasal y con un mayor pH del abomaso, causando condiciones desfavorables para la proteólisis, disminuyendo la formación del coágulo de las proteínas en el abomaso y aumentando la salida de éstas hacia el intestino delgado, dando como resultado una reducción en la eficiencia en la absorción de aminoácidos.

1.1.1.6 Digestión de grasas

La lipasa de la saliva (esterasa pregástrica) contribuye a la hidrólisis de las grasas y triglicéridos de la dieta. Esta enzima es particularmente activa sobre los triglicéridos que poseen ácidos grasos de cadena corta, pero también divide cadenas de ácidos grasos de cadena larga (Tomkins y Jaster, 1991). En el Cuadro 7 se resume la digestibilidad de algunas grasas usadas en la alimentación del becerro prerruminante (Roy, 1980).

Edwards-Webb (1983) realizó un experimento para probar la utilización de diferentes fuentes de grasa (manteca, aceite de coco, o sebo) en sustitutos de leche. Cuando los becerros

Cuadro 7. Digestibilidad de algunas fuentes de grasa usadas en la alimentación de becerros prorrumiantes.

LIPIDO	% MS	DIGESTIBILIDAD APARENTE (%)
Sebo	20	90.4
Manteca	20	96.0
Aceite de coco	20	95.5
Aceite de palma	17	95.0
Aceite de cacahuete	20	93.2
Sebo/coco 2:1	--	91.0

Roy (1980).

prerumiantes se alimentaron con un sustituto a base de leche descremada más 1% de diferentes fuentes de grasa, se observó una mayor hidrólisis de los lípidos; ésto pudo deberse no sólo a la liberación de ácidos grasos de cadena corta, sino también a una mayor liberación de ácidos de cadena larga cuando los ácidos de cadena corta están presentes en los triglicéridos.

La digestibilidad de los lípidos del alimento depende en primer lugar de la cantidad ingerida, al menos hasta las tres semanas de edad, ya que el ternero no podría a esta edad absorber más de 5.4 g de lípidos por kg de peso vivo (INRA, 1981; Tomkins y Jaster, 1991). En animales de mayor edad, el factor más importante para una mayor digestibilidad es la calidad de la emulsión.

Las grasas homogeneizadas en leche descremada líquida tienen una digestibilidad de 90 a 97%, de acuerdo a la proporción de ácidos grasos de cadena corta o insaturados. En tanto que el aceite de colza tiene una digestibilidad muy baja (69%), probablemente a causa de sus riqueza en ácido erúxico que, aunque insaturado, se absorbe en baja proporción. El contenido de grasa del alimento tiene poca influencia sobre su utilización digestiva, pero al emplear niveles excesivos (> 25%) se tiene el riesgo de que aumente la frecuencia de diarreas (INRA, 1981).

Jenkins *et al.* (1985) observaron que cuando se alimentó a becerros con sustitutos de leche con grasas como sebo o aceite de coco, el desarrollo y utilización del alimento fue similar, pero cuando se agregó aceite de maíz como fuente de grasa se tuvieron pobres resultados. Cuando estas grasas fueron reemplazadas completa

o parcialmente por sus ácidos grasos libres, la utilización del alimento y la ganancia diaria de peso de los becerros fueron menores. Los ácidos grasos libres tanto del aceite de coco como del aceite de maíz redujeron la palatabilidad y consumo de la dieta, por lo que se debe evitar adicionar fuentes de grasa con altas concentraciones de ácidos grasos libres.

1.1.2 SUSTITUTOS DE LECHE PARA BECERROS

1.1.2.1 Desarrollo de sustitutos de leche

Los sustitutos de leche se han desarrollado por dos razones: 1) como un sustituto cuando no hay leche disponible y 2) para reducir el costo de alimentación de los becerros.

Los primeros sustitutos de leche elaborados en los años 50 y 60 fueron formulados con altos niveles de leche en polvo descremada, reemplazando la grasa de la leche con manteca, sebo y grasas vegetales (Edwards, 1993; Reyes, 1973).

El desarrollo de estos primeros sustitutos de leche fue inconsistente, al comparar la leche entera con los sustitutos, éstos causaban una gran incidencia de diarreas, se observó que esto se debía a que la leche descremada en polvo que se calentaba en forma excesiva, causaba desnaturalización de las proteínas, lo que impedía la formación del coágulo en el abomaso, causando una rápida liberación de nutrientes en el intestino, lo cual puede ocasionar diarreas (Roy, 1980).

Para determinar la concentración de proteína desnaturalizada se realizaron diferentes pruebas, que ayudaron para desarrollar

sustitutos de mejor calidad en los años 60. A partir de entonces se han empleado técnicas de secado a bajas temperaturas para producir leche descremada en polvo con características nutritivas deseables. Sin embargo, la constante demanda de leche descremada en polvo para consumo humano, ha hecho que el costo de este ingrediente se eleve, resultando bastante costosa su inclusión como fuente de proteína en los sustitutos de leche para becerros. Esto ha originado que tanto investigadores como fabricantes de estos sustitutos, busquen fuentes de proteínas tanto animales como vegetales más baratas, para ser usadas en su formulación, con la finalidad de reducir los costos de alimentación de los becerros.

La proteína en la leche entera descremada contiene aproximadamente 80% de caseína y 20% de lactoglobulinas y lactoalbúminas (Edwards, 1993), sólomente la caseína de la leche se hidroliza en el abomaso en presencia del calcio, para formar el coágulo en el que también queda atrapada la mayor parte de la grasa de la leche, mientras que el suero que contiene lactoglobulinas y lactoalbúminas pasa al intestino sin formar coágulo (Roy, 1980).

A partir de las proteínas del suero que quedan después de la obtención de queso y lactosa ha sido posible producir concentrados proteínicos a bajo costo empleando técnicas de ultracentrifugación, pudiendo reemplazar en una elevada proporción a la leche en polvo descremada (Edwards, 1993).

1.1.2.1 Uso de proteínas de soya en sustitutos de leche

Desde lo encontrado por Shoptaw (1936), se ha buscado

reemplazar a las proteínas de la leche por proteínas no lácteas. Sin embargo, no todas las que se han estudiado se han podido utilizar satisfactoriamente debido a su alto costo, valor nutritivo o disponibilidad.

Entre las proteínas vegetales a las que se ha dedicado mayor atención por su menor costo y disponibilidad, han sido las de soya, a pesar de que su uso plantea algunos problemas, como el hecho de que la proteína de soya no forma coágulo en el abomaso, lo cual altera el tiempo de tránsito en el intestino, además de que su digestibilidad es menor a la de la leche, pudiendo causar diarreas. Además, los productos de soya contienen factores antinutricionales que pueden afectar al becerro, como son el inhibidor de tripsina, el cual influye adversamente en la digestión de las proteínas (Ramsey, 1977); antígenos, como la glicinina y beta-conglicinina, que son las principales globulinas de almacenamiento en la proteína de soya (Seegraber y Morrill, 1985), las cuales causan trastornos en la absorción de nutrientes; compuestos fenólicos, como el ácido síringico y ferúlico (Rackis et al., 1970), que pueden causar trastornos al ser ingeridos, como es el aumento en la producción de prostaglandinas, debido al incremento en la actividad de la cicloxigenasa (Gardner et al., 1989) y presencia de oligosacáridos, como son verbascosa, estaquirosa y rafinosa, que causan flatulencia (Rackis, 1981).

Diversos estudios se han realizado para evaluar la inclusión de productos de soya en sustitutos de leche para becerros, encontrándose diferentes respuestas, dependiendo del tipo de

producto de soya utilizado, del procesamiento al que se ha sometido y la edad de los animales a los que se les ha suministrado.

En trabajos realizados por Seegraber y Morrill (1979), estos autores observaron que la digestibilidad de la proteína de soya en becerros fue de 79%, debido a que la capacidad de absorción intestinal en el becerro durante los primeros días de vida es baja en el caso de proteínas no lácteas, pero al aumentar la edad de los animales su digestibilidad mejora. Noller et al. (1956) al proporcionar harina de soya en sustitutos de leche para becerros, encontraron que el uso de ésta no fue satisfactorio sino hasta que los becerros tuvieron 25 días de edad.

Se ha observado que la digestibilidad del nitrógeno y la grasa en los concentrados proteínicos de soya aumenta considerablemente de la tercera a la quinta semana de edad, sin embargo esto no se observa cuando se alimentan con harina de soya (Nitsan et al. 1972).

Smith y Sissons (1975) y Sissons y Smith (1976), reportaron disminución del vaciado abomasal, aumento en la velocidad de tránsito en el intestino delgado, absorción anormal de agua y minerales y disminución en la absorción de nitrógeno al proporcionar diferentes productos de soya a becerros. Lalles et al. (1995b), al proporcionar aislado de soya o harina de soya a becerros de un mes de edad, observaron que el crecimiento y las características de la canal en los animales que consumieron el aislado de soya fueron similares a aquellos a los que se les proporcionó leche, debido a una elevada digestibilidad de la

proteína y a que no se presentaron reacciones alérgicas, en contraste, la harina de soya tuvo una baja digestibilidad y produjo niveles elevados de anticuerpos en los animales.

La actividad del inhibidor de tripsina, cuando se utiliza soya cruda, se ha relacionado negativamente con el crecimiento adecuado de los becerros (Ramsey, 1977). Se ha sugerido que ésto se debe a una reducción de la secreción de tripsina y quimotripsina (Gorrill et al., 1967; Gorrill y Nicholson, 1971). Algunos estudios indican que las condiciones normales del abomaso (HCl y secreción de pepsina), pueden reducir la actividad del inhibidor de tripsina (Kakade et al., 1976).

Los trastornos digestivos observados en becerros que consumen productos de soya indican que se favorece una respuesta alérgica en el tracto digestivo (Smith y Sissons, 1975; Sissons y Smith, 1976; Seegraber y Morrill, 1986; Duvaux et al., 1988; Mir et al., 1989; Duvaux et al., 1990). Se ha encontrado que se producen anticuerpos en el becerro recién nacido al consumir proteínas de soya (Barratt et al., 1979). Kilshaw y Sissons (1979a, 1979b) observaron que la producción de anticuerpos en becerros alimentados con harina de soya coincidió con un aumento en la velocidad de tránsito, lo cual se asoció con el consumo de las proteínas antigénicas glicinina y beta-conglicinina, contenidas en la soya.

El valor nutritivo de los carbohidratos de la soya para el becerro es cuestionable, ya que durante los primeros días de vida puede utilizar la lactosa y glucosa, pero en muy baja proporción el almidón. Sin embargo, el procesamiento que se da a algunos

productos de la soya para obtener concentrados y aislados proteínicos, disminuyen la concentración de almidón (Nitsan *et al.*, 1972), así como de oligosacáridos como son la rafinosa, estaquiosa y verbascosa.

La soya cruda contiene hemaglutininas o lectinas, las cuales son tóxicas (Liener, 1981). Se ha mencionado que tienen la misma importancia que el inhibidor de tripsina en la disminución del crecimiento. La principal causa de la disminución del crecimiento debida a la presencia de hemaglutininas, se atribuye al menor consumo de alimento; no obstante, su sensibilidad al calor, ácidos, álcalis y pepsina la inactivan fácilmente, teniendo poca importancia cuando los productos de soya son procesados (Liener, 1981).

Debido a las limitantes que tiene el empleo de soya cruda y harina de soya en los sustitutos de leche para becerros, se han empleado varios métodos para mejorar su calidad nutritiva, como son la suplementación con aminoácidos o enzimas y tratamientos térmicos, además del uso de ácidos, álcalis y alcohol.

Se ha visto que la metionina es un aminoácido limitante en la soya en ratas, pollos y cerdos que consumen productos de soya, por lo cual es de igual importancia en el caso de los becerros prerrumiantes. Los requerimientos de metionina en el becerro se han investigado, encontrándose que en ausencia de cistina, son de .17 a .23 g/día/kg de peso (Tzeng y Davis, 1980).

Se ha pensado que la adición de enzimas a productos de soya puede aumentar su digestibilidad. Colvin y Ramsey (1968) observaron

que la predigestión enzimática de la harina de soya no estimuló el crecimiento en becerros, sin embargo la acidificación de la harina sí mejoró su digestibilidad. Por su parte, Fries *et al.* (1958) y Lassiter *et al.* (1959), no encontraron ningún efecto benéfico al agregar .5% de pepsina en sustitutos de leche conteniendo harina de soya.

Al someter los productos de soya a tratamiento térmico, se ha observado que su digestibilidad aumenta en un 73 a 89% (Nitsan *et al.*, 1971). Otros reportes en la literatura indican resultados similares (Kakade *et al.*, 1976; Miller y Ramsey, 1978). Sin embargo, el sobrecalentamiento resulta indeseable (Coblentz *et al.*, 1976).

El calentamiento de la soya destruye al inhibidor de tripsina (Coblentz *et al.*, 1976), aumentando la disponibilidad de la proteína para su degradación enzimática.

El tratamiento de la soya con ácidos mejora su utilización por los becerros, debido a una disminución del inhibidor de tripsina (Ramsey y Willard, 1975), aunque no en todos los estudios se ha encontrado el mismo efecto (Colvin y Ramsey, 1968).

También el tratamiento de la soya con álcalis ha mejorado el desarrollo de los becerros (Colvin y Ramsey, 1969; Coblentz *et al.*, 1976), aunque no se han observado iguales resultados que al proporcionar leche. Los mecanismos involucrados en los efectos positivos relacionados con este tratamiento no se conocen, aunque podría deberse a la inactivación de factores inhibitorios o a una mayor disponibilidad de nutrientes.

Se ha reportado que el tratamiento con calentamiento y álcalis puede disminuir la disponibilidad de la metionina o producir lisocalanina que es pobremente absorbida (Struthers, 1981).

El tratamiento con alcohol se ha empleado para mejorar la calidad de los productos de soya. La extracción de la proteína de soya con etanol caliente diluido con agua, desnaturaliza algunas proteínas presentes en la soya, como la glicinina y beta-conglicinina y compuestos fenólicos, que causan reacciones alérgicas (Gardner *et al.*, 1990), encontrándose que la eliminación de factores antigénicos en la soya aumenta su aprovechamiento por el becerro.

1.1.2.3 Niveles de proteína en sustitutos de leche

Los niveles de proteína en los sustitutos de leche dependen de la fuente de proteína, conteniendo generalmente de 20 a 22% del total del sustituto. Cuando el origen de la proteína es láctea o se emplean aislados proteínicos de origen vegetal, que contienen un mayor porcentaje de proteína y bajo o nulo de factores antinutricionales. En el caso de otras proteínas vegetales, como la harina de soya, debido a su menor digestibilidad puede ser de hasta 24% (Edwards, 1993).

1.1.2.4 Niveles de grasa en sustitutos de leche

La mayoría de los sustitutos de leche tienen un contenido entre 10 a 20% de grasa. Los sustitutos que contienen 20% de grasa generalmente se proporcionan a animales que se encuentran en

lugares fríos, que necesitan una dieta con una mayor densidad energética para cubrir sus necesidades. Menores niveles de grasa se requieren en climas con temperatura moderada y cálida (Edwards, 1993).

1.1.2.5 Medicamentos en sustitutos de leche

Existe un número muy limitado de medicamentos y combinaciones que están legalmente permitidos para incluirlos en la formulación de sustitutos de leche, como son la clortetraciclina, oxitetraciclina, neomicina y decoquinato, para la prevención de diarreas, neumonías y coccidiosis. La decisión para usarlos, así como el tipo de medicamento y dosis, dependen del consumo adecuado de calostro por el becerro al nacer, además de las condiciones sanitarias de la explotación (Tomkins y Jaster, 1991; Edwards, 1993).

1.1.3 CARACTERÍSTICAS DE LA SOYA

1.1.3.1 Características de la planta y la semilla

El cultivo de frijol soya se originó en Asia, donde ha sido usado como alimento por siglos (Waggle y Kolar, 1979). La soya se introdujo en México y se estableció comercialmente en 1958, desde entonces ha existido gran interés por este cultivo, ya que se ha demostrado que puede prosperar con éxito.

Con respecto al grupo de variedades extranjeras estudiadas en México, Lee, Hook, Hill, Bragg, Davies, Semmes, Hardee, Dorman, Nanda, Serrano, Bienville y Jackson, son las que más han prosperado

Nanda, Serrano, Bienville y Jackson, son las que más han prosperado en distintas regiones del país; siendo las variedades Bataoto, Laguna 65, Tropicana y Cajeme las que mejor se adaptan y recomiendan para ser cultivadas en Sinaloa, Comarca Lagunera, Trópico del Golfo y en el Valle del Yaqui, respectivamente (Reyes, 1973).

La soya pertenece a la Familia *Leguminosae*, Subfamilia *Papilionoideae* y Género *Glycine*. Son plantas herbáceas, anuales, con sistema radicular bien desarrollado y con abundante nodulación, tallos erguidos y ramificados, aunque algunas variedades pueden tenerlos rastreros o volubles. La longitud de los tallos varía de 45 cm a más de 1.5 m. Tanto el tallo, como las hojas y vainas suelen ser más o menos pilosas o hispidas (Dollar, 1975).

Tienen hojas alternadas, trifoliadas, con los folíolos ovalanceolados y el peciolo acanalado en su parte superior y engrosados en la base, donde se pueden observar unas pequeñas estípulas, las hojas se vuelven amarillas y caen cuando las vainas maduran, las flores se presentan en inflorescencias racimosas, son muy pequeñas y en número elevado, de color púrpura o blanquecinas.

La semilla madura está constituida por tres partes. La cáscara o cubierta de la semilla, el embrión y dos estructuras de reservas alimenticias, los cotiledones, que constituyen la mayor parte del volumen y peso de la semilla, contienen casi todo el aceite y proteínas, que se obtienen a partir del frijol de soya. Además, proporcionan el alimento necesario para el desarrollo de la plántula por un período aproximado de dos semanas durante la

El embrión está constituido por tres partes, las cuales son la radícula, el hipocotilio y el epicotilio. La radícula es la parte del embrión que más adelante se constituirá en la raíz primaria y el hipocotilio, éste sopesa y levanta los cotiledones arriba de la superficie del suelo, los cuales están colocados bajo la cubierta de la semilla, a un lado del hilio (ojo de la semilla) (Dollar, 1975).

El epicotilio es la parte del embrión que más adelante se constituirá en el tallo principal y es el punto que definirá el desarrollo de la planta, éste es muy pequeño y está escondido entre el par de cotiledones.

La cascarilla, el hipocotilio y los cotiledones de la soya están constituidos fundamentalmente por proteínas, grasas y carbohidratos. En los cotiledones el aceite está almacenado en pequeños compartimentos llamados esferosomas (0.2-0.3 μ de diámetro) y las proteínas en cuerpos de mayor tamaño (2-20 μ de diámetro), llamados aleuronas o cuerpos proteínicos, los cuales son una fuente de reserva alimenticia (Reyes, 1973).

Los carbohidratos están constituidos por almidón, estaquiosa, rafinosa, verbascosa, sacarosa, además de arabinosa y glucosa en pequeñas cantidades.

La proteína de la soya tiene un elevado contenido de lisina, pero es deficiente en aminoácidos azufrados. El contenido de algunos aminoácidos en la harina de soya y su relación con el patrón FAO, se presentan en el Cuadro 8.

Cuadro 8. Contenido de aminoácidos indispensables en la harina de soya.

AMINOACIDOS	HARINA DE SOYA	PATRON FAO (1973)
Isoleucina	4.2	4.2
Leucina	7.7	4.8
Lisina	6.4	4.2
Metionina + cistina	2.2	4.2
Fenilalanina	4.7	2.8
Treonina	3.6	2.6
Triptofano	1.7	1.4
Valina	4.4	4.2

Badui (1984).

1.1.3.2 Factores antinutricionales en la soya

La soya contiene factores antinutricionales que pueden ser termolábiles (inhibidor de tripsina, hemaglutininas, goitrógenos, antivitaminas y fitatos) o resistentes al calor (saponinas, estrógenos, factores de flatulencia, lisoalanina y alérgenos).

Las sustancias que tienen la capacidad de inhibir la actividad proteolítica de enzimas como la tripsina y quimotripsina se denominan inhibidores de las proteasas (Anderson *et al.*, 1979).

Se piensa que existe una interacción directa del inhibidor de tripsina y las proteínas del alimento, formando un complejo resistente a la hidrólisis enzimática. Los inhibidores de tripsina representan aproximadamente el 6% del total de la proteína de soya y se ha estimado que pueden ocasionar la inhibición o el retardo del crecimiento en un 30 a 50%, así como hipertrofia pancreática causada en animales no rumiantes al ingerir soya sin tratamiento térmico (Badui, 1984).

Varios tipos de actividad se han encontrado en la soya, sin embargo la máxima actividad se atribuye al cristalizado por Kunitz, denominado comunmente como inhibidor de Kunitz; otro inhibidor importante en la soya, es otra proteína denominada inhibidor de Bowman Birk, esta proteína tiene la capacidad de inhibir tanto a la tripsina como a la quimotripsina en forma simultánea (Campos *et al.*, 1982).

Las hemaglutininas o lectinas denominadas así por su característica de aglutinar los glóbulos rojos, tienen especificidad para los eritrocitos de diferentes especies animales

(Jaffé et al., 1974), encontrándose en el frijol de soya desgrasado en aproximadamente 3% (Turner y Liener, 1976). Las hemaglutininas son glucoproteínas con un peso molecular de 110,000, contienen cerca de 5% de carbohidratos, principalmente manosa y N-acetil-D-glucosamina.

A estos compuestos se les atribuyen efectos antifisiológicos en los animales no rumiantes que les ingieren, tales como retardo en el crecimiento, efectos inmunosupresores, disminución de la digestibilidad y absorción de nitrógeno, disminución de la digestibilidad de carbohidratos, alteración en la actividad de las enzimas intestinales y disminución de insulina en la sangre (Liener, 1981; Tindal, 1984).

En otros estudios se ha observado además de una baja concentración de insulina en sangre, retardo en el crecimiento, lo cual ha sugerido que el crecimiento inadecuado podría deberse a reducción en la síntesis de proteínas (Ramsey y Willard, 1975).

Se ha señalado que la soya cruda causa aumento de tamaño de la glándula tiroides en la rata y el pollo, lo cual puede ser contrarrestado con la administración de yodo, o ser parcialmente eliminado con calor. Se piensa que el componente en la soya responsable de este efecto goitrogénico, es un oligopeptido de bajo peso molecular, sin embargo éste no se elimina con la digestión peptídica, por lo que se ha propuesto que este compuesto evita la captación de yodo por la glándula tiroides, o que la presencia de bocio puede deberse a un aumento en la eliminación de yodo por heces, así como a una simple deficiencia de éste (Liener, 1981).

También pueden encontrarse en la soya compuestos antivitaminicos que causan deficiencias de las vitaminas D, E y B₁₂, debido posiblemente en el caso de la vitamina D a la presencia de ácido fítico, en tanto que en la E podría deberse a la presencia de una tocoferol oxidasa y en el caso de la B₁₂, a la presencia de un factor termolábil que aumenta los requerimientos de esta vitamina y causa una mayor excreción de metabolitos asociados con enzimas que requieren a la vitamina B₁₂ como coenzima (Liener, 1981).

El ácido fítico que contiene la soya se une a iones metálicos di y trivalentes como el calcio, magnesio, zinc, cobre y fierro, formándose quelatos que son pobremente absorbidos en el intestino, causando una baja disponibilidad de estos minerales (Liener, 1981).

Algunos compuestos, como las isoflavonas con actividad estrógenica semejante al dietilstilbesterol, se han aislado de la soya. Estas isoflavonas pueden interferir en el comportamiento reproductivo e inhibir el crecimiento de los animales cuando son proporcionadas en cantidades elevadas. Sin embargo, es poco probable que los estrógenos presentes en la soya puedan causar problemas, cuando la soya no es el único alimento que se consume en la dieta.

Las saponinas son compuestos formados por sapogenina y diversos azúcares, que tienen la propiedad de producir espuma, disminuir la tensión superficial y ser hemolíticas. La soya tiene aproximadamente 0.5% de saponinas no tóxicas a diferencia de algunas que se han aislado de otras plantas y que tienen propiedades antifisiológicas. Las saponinas son hidrolizadas por

las bacterias intestinales; sin embargo, aparentemente no existe ninguna evidencia de que estos compuestos en la soya tengan efectos tóxicos en animales de laboratorio, aún siendo alimentados con concentraciones tres veces más altas a las encontradas normalmente en la soya, por lo cual algunos autores sugieren que no deben considerarse como factores antinutricionales en la soya (Liener, 1981; Badui, 1984).

Uno de los factores más importantes que limitan el uso de la soya en la alimentación humana es la flatulencia asociada con su consumo, causada por oligosacáridos con enlaces alfa-galactosídicos y beta-fructosídicos, como son la rafinosa y estaquiosa.

Debido a que el hombre no produce la enzima alfa-galactosidasa, necesaria para hidrolizar los enlaces alfa-galactosídicos de estos oligosacáridos, para producir azúcares fácilmente absorbibles en el intestino, al pasar estos carbohidratos intactos al intestino grueso son metabolizados por la flora microbiana, produciendo gases como bióxido de carbono, hidrógeno y en menor proporción metano.

La extracción de la proteína de la soya por medio de álcalis, para producir aislados proteícos, puede reducir su valor nutritivo, debido en parte a la destrucción de cistina, produciendo deshidroalanina, la cual puede interactuar con el grupo amino de la lisina para formar lisoalanina, lo cual reduce la digestibilidad de la proteína y una menor disponibilidad de lisina.

La soya puede causar reacciones alérgicas, atribuyéndose estas reacciones a la presencia de conglícinina y beta-conglícinina, que

son los principales componentes de la proteína de la soya. Estas proteínas son resistentes a la desnaturalización por calentamiento, sin embargo algunos autores han observado que la extracción con etanol caliente diluido con agua las remueve o inactiva (Liener, 1981).

1.1.3.3 Producción nacional de frijol soya

La demanda de la soya va en función del valor de sus productos, principalmente pasta y aceite, siendo la pasta de soya una de las fuentes más importantes de proteínas para la fabricación de alimentos balanceados (Garlich, 1988).

En el Cuadro 9 se presenta la producción de frijol soya en México en los últimos años, observándose una disminución en la producción nacional a partir de 1993 (SAGAR, 1996), debido principalmente a problemas climatológicos, así como a severos problemas económicos. No obstante, la recuperación ha sido gradual y se espera que en los próximos años pueda sobrepasar a la alcanzada en 1989.

1.1.3.4 Productos obtenidos a partir de la soya

A partir de la soya se obtienen diferentes productos que son empleados en la industria y en la alimentación humana y animal (Figura 1). Entre los que se utilizan como alimento, se encuentran el aceite de soya, quedando como subproducto de la extracción de éste la pasta de soya, que como ya se mencionó se emplea en la fabricación de alimentos balanceados para animales. Además harina

Cuadro 9. Producción nacional de soya.

AÑO	SUPERFICIE COSECHADA (HECTAREAS)	PRODUCCION (TONELADAS)
1989	490125	992408
1990	285615	575315
1991	341679	575366
1992	322793	593540
1993	237765	497566
1994	288494	525358
1995	239477	522600

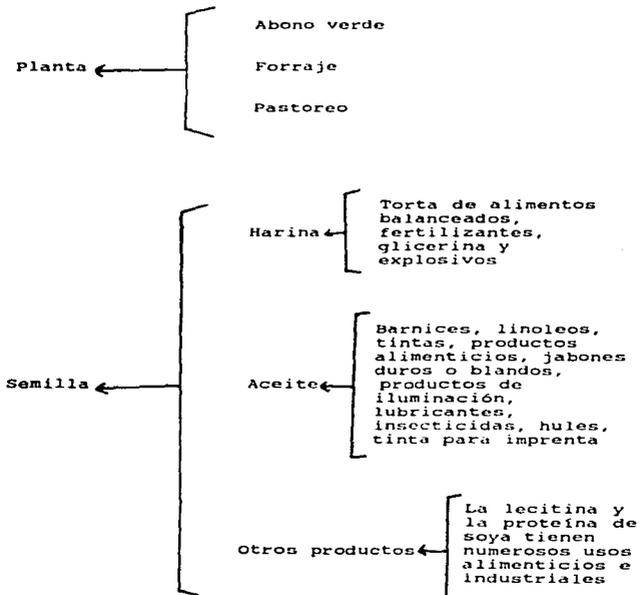
SAGAR (1996) .

de soya, concentrados proteínicos de soya con 60 a 70% de proteína y aislados proteínicos con un mínimo de 90% de proteína. Dentro de esta categoría general, existen diversos productos con diferentes características físicas y químicas, y propiedades funcionales (Waggle y Kolar, 1979).

El método más común de producción de pasta de soya incluye el procesamiento del frijol de soya entero por extracción del aceite con solventes, este método consta de varios pasos, como son la limpieza, temple, descascarillado, acondicionamiento, hojueleado, extracción, desolventizado/tostado, secado y molido. Los productos obtenidos a partir de este método son la pasta de soya con cascarilla (44% de proteína) y la pasta de soya descascarillada (48-49% de proteína), ambas extraídas con solventes. El valor nutritivo de la pasta de soya descascarillada comparado con la que tiene cascarilla varía según la especie animal a la que se le proporcione (Kerntke, 1992); siendo utilizada la pasta descascarillada principalmente para alimentación de animales no rumiantes y la que contiene la cascarilla para rumiantes, por la mayor capacidad de estos animales para utilizar grandes cantidades de fibra.

En nuestro país hay disponibilidad de pasta de soya, a un precio menor que el de otros productos que se emplean para proporcionar la proteína en los sustitutos de leche para becerras de reemplazo, por lo que puede utilizarse para obtener concentrados proteínicos con características adecuadas, como son elevado contenido proteínico (aproximadamente 50%), bajo en grasa y

Figura 1. Partes de la planta de soya y su utilización.



Quillet (1983).

factores antinutricionales, que puedan ser empleados para sustituir parcialmente a las proteínas lácteas en los reemplazantes de leche, reduciendo los costos de alimentación de las becerras.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo General

Con base en los resultados de trabajos anteriores desarrollar un sustituto lácteo deshidratado a partir de un concentrado proteínico de pasta residual de soya, con características adecuadas para la alimentación de becerros a partir de la segunda semana de edad, en el cual el 50% de la proteína total sea aportada por el concentrado proteínico de pasta de soya y el otro 50% por proteínas de origen lácteo.

1.2.2 Objetivos Particulares

1.2.2.1 Elaborar un concentrado proteínico a partir de pasta residual de soya, que contenga un mínimo de 60% de proteína cruda.

1.2.2.2 Que el sustituto desarrollado se ajuste a la calidad bacteriológica establecida para productos lácteos por la Norma Oficial Mexicana, que sea fácilmente reconstituible en agua y que presente características físicas similares a las de la leche fresca.

2 DESARROLLO EXPERIMENTAL

2.1 METODOLOGIA

En el sustituto lácteo a desarrollar se planteó que tuviera las siguientes características: contenido de proteína de 22 a 24%, grasa 10 a 15%, fibra cruda menor de 2%, inhibidor de tripsina < 1000 UIT/g; hemaglutininas y saponinas negativo, así como que el contenido de bacterias mesofílicas aerobias fuera negativo.

Para elaborar el sustituto se obtuvo un concentrado proteínico a partir de pasta de soya (PS), como sustituto parcial de la proteína láctea. La PS se seleccionó por ser una buena fuente de proteína vegetal, así como por su bajo costo y disponibilidad en México. La PS fue proporcionada por Industrias CONASUPO, S.A.

La PS se molió con un molino de coronas, posteriormente se tamizó en una malla de número 100, con el propósito de disminuir el contenido de fibra cruda, obteniéndose una harina fina (HPS).

La HPS se sometió a un proceso de extracción y concentración de la proteína, empleando una técnica modificada a la reportada por Sissons et al. (1979).

Se utilizó también leche descremada (marca comercial Sveltes, adquirida en una tienda de autoservicio), suero de leche (Industrial Deshidratadora, S.A. de C.V., México, D.F.), aceite de coco (Hidrogenadora Nacional S.A. de C.V., México, D.F.), DL-metionina (Fermex, Mexico, D.F.), lecitina, estabilizante, vitaminas, minerales y oxitetraciclina (ver cuadros 10 y 11).

Material:

1 refrigerante
2 mangueras
3 pinzas con nuez
2 termómetros
1 matraz Erlenmeyer de 4 l
1 cápsula para agitación
1 parrilla con agitador mecánico
1 recipiente para baño maría
1 agitador de vidrio
2 vasos de precipitado de 1 l
1 probeta de 1 l
1 balanza granataria
papel aluminio

Reactivos:

Alcohol

Agua

Procedimiento:

Incrementación del contenido proteínico. Este proceso tuvo como propósito aumentar el contenido proteínico y eliminar la glicinina, para lo cual la HPS se sometió a tres tratamientos de una hora cada uno, con etanol diluido en agua al 65% (v/v) en relación HPS:etanol 1:5, a 78°C, manteniendo agitación constante, separando posteriormente el etanol usado mediante filtración al vacío.

Al producto resultante se le denominó concentrado proteínico (CPPS), éste se secó en estufa de vacío a 45°C, una vez seco se sometió a molienda fina en un molino de coronas y se tamizó con

Cuadro 10. Formulación del sustituto de leche.

INGREDIENTE	G/KG DE MATERIA SECA
Concentrado proteínico (CPPS)	170
Leche descremada	225
Suero	450
Aceite de coco	128
DL-metionina	1
Lecitina	20
Estabilizante	2.5
Vitaminas	1
Minerales*	1
Oxitetraciclina	60 mg/kg

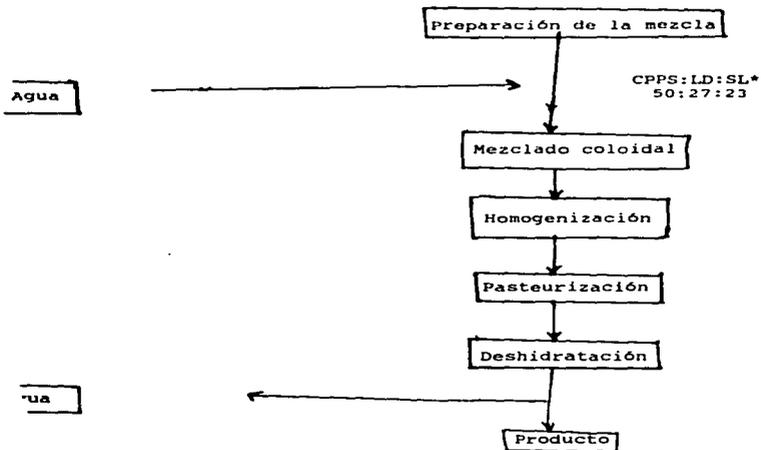
* CaCl_2 480 mg/kg
 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 250 mg/kg
 KH_2PO_4 210 mg/kg

Cuadro 11. Complejo vitamínico utilizado*.

VITAMINA	
A (millones de UI)	24.00
D ₃ (millones de UI)	4.00
E (g)	40.00
K ₃ (g)	4.00
B ₁ (g)	4.00
B ₂ (g)	12.00
Acido pantoténico (g)	24.00
Acido nicotínico (g)	60.00
B ₆ (g)	7.50
Acido fólico (g)	1.25
B ₁₂ (mg)	60.00
Biotina (mg)	250.00
C (g)	200.00
Excipiente c.b.p. (g)	1000.00

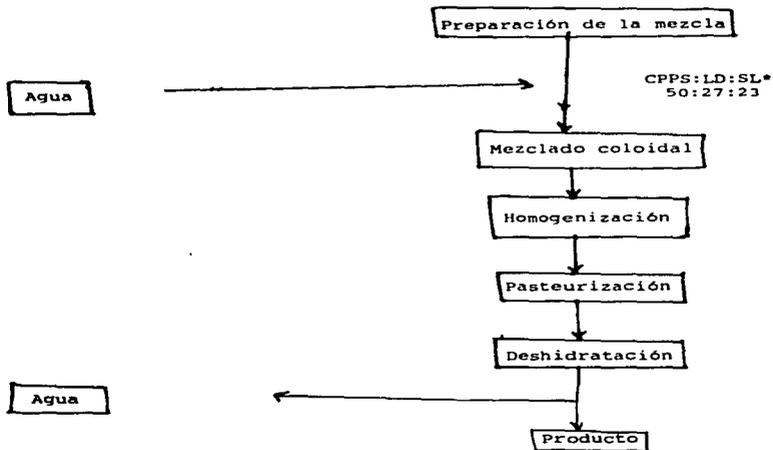
* Lutavit Blend RB1, BASF
Reg. SARH No. V-2730-007

Figura 2. Diagrama general para la obtención del sustituto de leche.



Proporción de proteína cruda proporcionada por el concentrado proteínico de pasta de soya (CPPS), leche descremada (LD) y suero de leche (SL).

Figura 2. Diagrama general para la obtención del sustituto de leche.



* Proporción de proteína cruda proporcionada por el concentrado proteínico de pasta de soya (CPFS), leche descremada (LD) y suero de leche (SL).

malla del número 100. El etanol empleado se destiló y ajustó a la concentración deseada para ser nuevamente utilizado, con la finalidad de disminuir los costos.

Tanto la PS como la HPS y el CPPS se evaluaron mediante análisis químico proximal, realizándose cada análisis por triplicado. En la HPS y CPPS también se determinó la presencia de factores antifisiológicos y se realizó análisis microbiológico.

Una vez obtenido y evaluado el CPPS se formuló el sustituto de leche (SL) (Cuadro 10), en el cual se incluyó el CPPS en una proporción de 50% del total de la proteína, leche descremada, suero de leche, aceite de coco parcialmente hidrogenado, lecitina de soya, DL-metionina, vitaminas (Lutavit Blend RB1, BASF) minerales, estabilizante y antibiótico, de acuerdo a los requerimientos establecidos por el NRC (1978) para cubrir las necesidades de becerros lactantes.

Para la preparación del sustituto (Figura 2) se mezclaron los ingredientes en un tanque con agitación constante a temperatura de 20°C hasta alcanzar 45°C y disolverse completamente, homogeneizando después la dispersión y pasteurizando a 75°C por 15 segundos.

La cantidad de estabilizante (nombre comercial: Palsgaard) que se empleó, se determinó por pruebas de ensayo y error, hasta alcanzar una viscosidad semejante a la de la leche fresca, tomando el pH de la mezcla, temperatura y fuerza iónica de la solución.

Para deshidratar el SL se utilizó un secador por aspersion marca Swenson, para lo cual se prepararon 10 l del producto que

tenía un contenido de 14% de sólidos. Las condiciones de secado fueron establecidas de acuerdo a las condiciones de secado de la leche fresca (Arroyo, 1982), ya que se buscó que el sustituto tuviera características similares a las de la leche.

La presión de alimentación fue de 30 lb/pul², evitando que ésta descendiera para evitar que se tapara la espesa. La velocidad de flujo tuvo que ser regulada de manera que se mantuviera en 5 l/h, ya que una mayor presión o alimentación del producto causa su condensación y goteo en el techo de la cámara de secado, teniéndose grandes pérdidas en el producto final.

La presión del aire se mantuvo en 30 lb/pul², con temperatura de entrada de 177°C y salida de 50°C, ya que si baja la temperatura, el producto final se obtiene con un elevado porcentaje de humedad, lo cual afecta su calidad.

En el SL se calizó el análisis químico proximal, presencia de factores antifisiológicos y análisis microbiológico. Además se realizaron pruebas para conocer si sus características fisicoquímicas eran aceptables, así como la forma más adecuada para su almacenamiento (Manjarréz, 1987), las cuales fueron solubilidad de la proteína, estabilidad, absorción de agua del producto deshidratado, densidad del producto en agua, estabilidad drástica, viscosidad y determinación de pH.

2.2 METODOS DE ANALISIS

2.2.1 Análisis químico proximal de acuerdo a los métodos establecidos por AOAC (1984).

2.2.1.1 Humedad por estufa de secado.

2.2.1.2 Cenizas por calcinación.

- 2.2.1.3 Nitrógeno total por el método de Kjeldhal.
- 2.2.1.4 Extracto etéreo por el método de Goldfish.
- 2.2.1.5 Fibra cruda por el método de hidrólisis ácida y alcalina.

- 2.2.2 Determinación de factores antifisiológicos.
 - 2.2.2.1 Inhibidor de tripsina (Kakade *et al.*, 1974).
 - 2.2.2.2 Hemaglutininas, método cualitativo (Jaffé *et al.*, 1974).
 - 2.2.2.3 Saponinas, método cualitativo (Monroe *et al.*, 1952).

- 2.2.3 Análisis microbiológico, de acuerdo a las técnicas establecidas por la Secretaría de Salud (SSA, 1979).
 - 2.2.3.1 Cuenta de bacterias mesofílicas aerobias, agar cuenta estándar.
 - 2.2.3.2 Hongos y levaduras, agar papa dextrosa acidificada.
 - 2.2.3.3 Coliformes totales y fecales, número más probable (NMP).
 - 2.2.3.4 *Salmonella sp.*, proenriquecida en agua peptonada.

- 2.2.4 Características fisicoquímicas del producto en polvo y rehidratado.
 - 2.2.4.1 Solubilidad de la proteína (índice de solubilidad) (Morr y Kinsella, 1985).
 - 2.2.4.2 Estabilidad, esta prueba se realizó tomando en cuenta la calidad de homogenización de la leche, para lo cual el parámetro fue el porcentaje de separación de fases (fase acuosa y fase de suspensión), utilizando una probeta graduada de 100 ml en la que se vertió el producto a diferentes temperaturas (20, 30, 40 y 60°C),

la lectura de separación de fases se tomó en un tiempo máximo de 60 min (Labusa, 1982).

- 2.2.4.3 Absorción de agua del producto deshidratado. Se colocó el producto en un desecador conteniendo una solución de cloruro de sodio, el cual proporciona una humedad relativa del 80%, a una temperatura de 25°C, registrándose el cambio de peso del producto cada 25 h, por una semana (Labusa, 1982).
- 2.2.4.4 Densidad del producto en polvo. El producto se pesó en un matraz aforado de 10 ml, el cual fue previamente puesto a peso constante, sabiendo que la densidad es igual a masa sobre volumen.
- 2.2.4.5 Estabilidad drástica. Las muestras se centrifugaron y se midió la proporción de sólidos que sedimentan, siendo ésta la porción inestable (Labusa, 1982).
- 2.2.4.6 Viscosidad. Se determinó mediante la utilización de un viscosímetro Ostwald a 20°C.
- 2.2.4.7 Determinación de pH, por medio de un potenciómetro Beckman.

3. RESULTADOS Y DISCUSION

3.1 Análisis químico proximal

En el Cuadro 12 se presentan los resultados del análisis químico proximal realizado a la PS, HPS y SL, observándose que la fibra cruda disminuyó en la HPS 27.14% en relación a la PS por el proceso de tamizado, siendo esta su finalidad, ya que por el método utilizado para extraer la proteína y obtener el CPPS, ésta no se elimina sino que tiende a concentrarse, al extraer los carbohidratos solubles (Madrigal y Ortega, 1989). En el CPPS la fibra aumentó en 116.73%, en relación a la HPS; no obstante, esta circunstancia no fue un factor limitante para que se incluyera en el SL, ya que ésta tiende a diluirse al formular el sustituto, encontrándose un porcentaje de 1.14 en el SL, menor al 2% que se considera como máximo en un sustituto de leche para becerros.

La concentración de proteína cruda aumentó en el CPPS (66.66%) en comparación con la HPS (44.98%), en un 48.20%, siendo el valor obtenido en el CPPS menor al 70% señalado por algunos autores como mínimo para un concentrado de proteína de soya (Waggle y Kolar, 1979), pero mayor al obtenido por tratamiento con etanol (55%), por Smith y Sissons (1975), para ser usado en la formulación de sustitutos para becerros y similar al comercializado por Central Soya (Promocaf[®], Central Soya, 1977), para usarse en estos sustitutos, con 66% de proteína cruda. El porcentaje de proteína en el SL fue de 21.33%, lo cual se considera adecuado, tomando en cuenta que el 50% de la proteína en el SL fue aportado por proteína vegetal (Edwards, 1993).

El contenido de cenizas en la HPS fue similar en relación

CUADRO 12

ANÁLISIS QUÍMICO PROXIMAL DE LAS MATERIAS PRIMAS UTILIZADAS PARA ELABORAR EL SUSTITUTO DE LECHE*

Í	PASTA DE SOYA {PS}	HARINA DE SOYA {HPS}	CONCENTRADO DE SOYA {CPPS}	LECHE DESCREMADA {LD}	SUERO DE DE LECHE {SL}	SUSTITUTO DE LECHE CPPS:LD:SL 50:27:23 [■]
Humedad	7.38±.072**	9.82±.023	8.80±.083	3.60±.034	7.00±.010	3.47±.020
Proteína cruda (N X 6.25)	43.25±1.44	44.98±.578	66.66±.046	26.89±.146	12.47±.001	21.33±.380
Extracto etéreo	1.36±.020	0.68±.044	0.33±.006	0.68±.019	0.20±.001	18.88±.185
Fibra cruda	1.61±.015	2.63±.030	5.70±.005	0	0.77±.090	1.14±.011
Cenizas	7.38±.028	7.78±.080	5.87±.105	7.84±.078	9.80±.057	6.99±.525
Extracto libre de nitrógeno***	44.40	43.93	21.44	64.59	76.76	51.66

* Datos en base seca

** Media de tres determinaciones, desviación estándar de la media

*** Por diferencia

■ Proporción de proteína cruda proporcionada por el CPPS, leche descremada y suero de leche

a la PS, disminuyendo en aproximadamente 23% en el CPPS, siendo estos resultados similares a los encontrados por Madrigal y Ortega (1989), quienes utilizaron una metodología similar para la obtención de un concentrado proteínico a partir de pasta de soya. El porcentaje de cenizas encontrado en el SL es similar al de la leche fresca, al reconstituirse con agua y tener un contenido de 12 a 14% de sólidos totales (Foley y Otterby, 1978; Bakke, 1995).

El porcentaje de grasa disminuyó en 50% en la HPS y 75.73% en el CPPS, en relación con la PS. En el SL éste fue de 18.88%, ligeramente mayor a lo propuesto como objetivo, sin embargo se encuentra dentro de los límites señalados en cuanto al contenido de grasa permitido en los sustitutos de leche para becerros, por lo cual no afectaría en forma adversa a los animales que lo consumieran (Roy, 1980).

3.2 Factores antinutricionales

La presencia de factores antinutricionales en la HPS, CPPS y SL, se presentan en el Cuadro 13. En este trabajo se detectó el inhibidor de tripsina en la HPS (40,000 UIT/g), disminuyendo a 4,300 UIT/g en el CPPS y 1,100 UIT/g en el SL, lo cual se atribuye a inactivación por calor debido al tratamiento para la extracción de la proteína de la HPS, en el cual se calentó ésta a 78°C en una solución con etanol acuoso. Collins y Beaty (1980), observaron que la actividad del inhibidor de tripsina se destruyó rápidamente al someter semillas verdes de soya a ebullición en agua caliente (80°C) por nueve minutos; por otra parte, Gallardo et al. (1974) al aplicar tratamientos húmedos y secos con

CUADRO 13

FACTORES ANTINUTRICIONALES DETERMINADOS EN LA HARINA DE PASTA DE BOYA (HPS), CONCENTRADO PROTEINICO DE BOYA (CPPS) Y DEL SUSTITUTO DE LECHE (SL)

FACTOR ANTINUTRICIONAL	HPS	CPPS	SL
Inhibidor de tripsina (UIT/g) ¹	40000	4300	1100
Hemaglutininas ²			
Eritrocitos de vaca	-	-	ND
Eritrocitos de conejo	12	-	ND
Saponinas	+	-	ND

¹ Unidades de inhibidor de tripsina/mg de muestra seca y desgrasada

² Prueba cualitativa

ND No detectado, escaso o dudoso+, negativo-

calentamiento para destruir al inhibidor de tripsina, encontraron que el calentamiento en seco no lo inactiva, en tanto que por vía húmeda se elimina casi totalmente.

El contenido de inhibidor de tripsina en el SL (1,100 UIT/g) fue ligeramente mayor a lo propuesto (1,000 UIT/g), no obstante Ramsey (1977) encontró que con valores de hasta 4,000 UIT/g se alcanzaron buenas ganancias de peso en terneras.

Las hemaglutinas determinadas en la HPS se detectaron únicamente con eritrocitos de conejo, no así en los de vaca. En el CPPS y en el SL no fueron detectadas. Estos compuestos son destruidos por el calor, ya que son termolábiles (Liener, 1981), favoreciendo su eliminación además del calor, la humedad (Contreras y Tagle, 1974), por lo que el tratamiento al que se sometió la HPS para obtener el concentrado favoreció su inactivación.

En la HPS se detectó escasa presencia de saponinas, siendo negativa en el CPPS y no detectada en el SL. El no haberse encontrado en el CPPS y SL podría deberse a que fueron eliminadas al someterse la HPS al tratamiento con etanol diluido en agua, por un efecto de dilución, ya que estos compuestos no son termolábiles (Liener, 1981).

3.3 Análisis microbiológico

En el Cuadro 14 se presentan los resultados del análisis microbiológico realizado en el HPS, CPPS y SL, en el que se observa la presencia de bacterias mesofílicas totales, así como de hongos en la HPS (130 col/g) y en el CPPS (120 col/g), y de coliformes totales y fecales en el CPPS (11 y 3 col/g,

CUADRO 14

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA HARINA DE PASTA DE SOYA (HPS), CONCENTRADO PROTEÍNICÓ DE PASTA DE SOYA
(CPPS) Y DEL SUSTITUTO DE LECHE (SL)

	HPS	CPPS	SL
Cuenta de bacterias mesofílicas aerobias (col/g)	9500	600	5500
Hongos	130	120	ND
Levaduras	ND	ND	ND
Coliformes totales*	ND	11	ND
Coliformes fecales*	ND	3	ND
<i>Salmonella</i> sp**	ND	ND	ND

* Número más probable

** Bacterias en 25 g de muestra

ND No detectado

respectivamente). La cuenta de bacterias mesofílicas aerobias disminuyó en el CPPS (600 col/g) en relación a la HPS (9500 col/g), aumentando en el SL (5500 col/g). La presencia de estos organismos en el caso del CPPS y SL pudo deberse a contaminación por manejo y almacenamiento inadecuado de las muestras, sin embargo esto no representa un problema, ya que la Norma Oficial Mexicana (NOM, 1986) para leche destinada para consumo animal, acepta una cuenta bacteriana de 50,000 col/g.

3.4 Características fisicoquímicas del sustituto de leche

La determinación de las propiedades fisicoquímicas del SL se muestran en el Cuadro 15. La solubilidad de la mezcla antes de deshidratar fue de 68% para los sólidos totales y 70% de solubilidad del nitrógeno, a una temperatura de 20°C con pH 7.5, homogenización de 5000 psi y viscosidad de 3.8 cp, valor muy superior al reportado para la leche fresca, el cual es de 2.2 a 2.5 cp (Estrada, 1988), debido al uso de aditivos como la lecitina y el estabilizante que se adicionaron en la formulación del sustituto (Manjarréz, 1987), lo cual no favoreció que se solubilizaran al disolverse en el agua.

Se deshidrató por aspersion obteniéndose un producto en polvo con 3.90% de humedad y 23.59% de proteína cruda, y densidad de 1.59 g/ml, valor superior al que presenta la leche fresca de 1.021 g/ml. La mayor densidad encontrada en el sustituto se debió básicamente a la presencia minerales y estabilizante.

Se pudo determinar que el producto en polvo absorbió una cantidad aproximada de 12 g de agua/100 g de muestra en un lapso de 24 h, manteniéndose constante este valor por una semana; sin

Cuadro 15. Características fisicoquímicas de la leche y del sustituto de leche.

	LECHE	SUSTITUTO DE LECHE
ESTABILIDAD A 20°C	100%	98%
DENSIDAD A 20°C	1.021 g/ml	1.560 g/ml
VISCOSIDAD A 20°C	2.2 - 2.5 cp	3.8 cp

embargo, fue notorio el cambio en su aspecto, de polvo fino a un estado granuloso, por lo que se deduce que es sumamente importante cuidar el tipo de empaque que se debe utilizar para este producto, debiendo ser preferentemente impermeable, para evitar la rancidez y contaminación microbiana del mismo.

El producto final, el sustituto lácteo, se rehidrató a 14% de sólidos, concentración similar a la que se determinó en la preparación del producto antes de deshidratar, rehidratándose completamente a temperatura ambiente (20°C), presentando una solubilidad de 69% de sólidos solubles y 71.5% de solubilidad de nitrógeno, lo cual representa un 1.5% de incremento con respecto a la solubilidad del producto antes de secarse, lo que indica que no se afectaron adversamente los componentes del sustituto, debido al tratamiento térmico durante el secado.

En cuanto a la viscosidad, se obtuvo un valor de 3.6 cp; en comparación con el valor de 3.8 cp de viscosidad para el producto antes del secado por aspersión. La viscosidad está dada principalmente por el emulsificante, por lo cual la disminución observada en el sustituto lácteo pudo deberse a que la lecitina podría haberse alterado física y químicamente, perdiendo ligeramente su funcionalidad. No obstante, el valor observado de viscosidad es superior al reportado para la leche fresca.

La estabilidad de la bebida aumentó de 96% antes del secado a 98% después del proceso. El aumento en la estabilidad del sustituto se debió a la disminución del tamaño de las partículas durante el proceso de homogenización y secado (Lewis, 1994), así como a la forma que adquirieron las partículas al deshidratarse, lo que indica que el proceso de secado fue adecuado.

Una vez rehidratado el producto, éste presentó un contenido de 2.6 g/100 ml de proteína cruda, ligeramente menor al de la leche fresca, que contiene 3 g/100 ml. Sin embargo, esto no afectaría a los animales al consumir el sustituto, ya que se proporcionaría a becerros a partir de la segunda semana de edad, cuando además de la leche, se les proporciona a los animales concentrado iniciador, el cual también aporta proteínas al becerro (Edwards, 1993).

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

En general los objetivos propuestos fueron cubiertos, ya que se logró obtener un concentrado proteínico a partir de pasta de soya, con un porcentaje adecuado de proteína cruda, disminuyendo el inhibidor de tripsina, eliminándose las hemaglutininas y saponinas contenidas en la pasta de soya, gracias al proceso empleado para la extracción de la proteína.

Basándonos en los resultados de los análisis realizados al sustituto de leche obtenido, éste cumplió ampliamente con los objetivos propuestos y sus características quedan dentro de las especificaciones establecidas para sustitutos lácteos, para que se considere de buena calidad, por lo que se concluye que el producto puede ser utilizado en la alimentación de becerras de reemplazo como alternativa al empleo de leche de vaca. Sin embargo, es necesario realizar pruebas de alimentación utilizando este sustituto en becerros a partir de la segunda semana de edad, para determinar su aceptación, consumo, ganancia de peso y presencia de diarreas, al ser alimentados con este producto.

5. BIBLIOGRAFIA

- Anderson, R.L., J.J. Rackis and W.H. Tallent. 1979. Biologically active substances in soy products. En: Soy protein and human nutrition. Eds. H.L. Wilcke, D.T. Hopkins and D.H. Waggle. Academic Press. New York, San Francisco, London.
- Arroyo, E. 1982. Secado de aspersión. Ind. Alimentaria 4:(3)5.
- AOAC. 1984. Official methods of analysis. Association of Official Analytical Chemist. 14th. Ed. Washington D.C.
- Badui, D. S. 1984. La Soya. Química de los alimentos. Ed. Alhambra Mexicana. México.
- Bakke, M.J. 1995. Feeding the newborn calf. Quinta reunión anual sobre producción de leche y carne en climas cálidos. Universidad Autónoma de Baja California, SAGAR, Asociación Mexicana de Producción Animal. Septiembre 6-7, Mexicali, B.C.
- Barrat, M.E.J., P.J. Strachan and P. Porter. 1979. Immunologically mediated nutritional disturbances associated with soya-protein antigens. Proc. Nutr. Soc. 38:143.
- Beharka, A. A., T. G. Nagaraja and J.L. Morrill. 1991. Performance and ruminal function development of young calves fed diets with *Aspergillus oryzae* fermentation extract. J. Dairy Sci. 74:4326.
- Campos, O.F., J.T. Huber, J.L. Morrill, R.K. Brownson, A.D. Dayton, H.J.S. Harrison and R.C. Wagner. 1982. Spray dried fish solubles or soy protein concentrate in milk replacers formulations. J. Dairy Sci. 65:97.
- Central Soya. 1977. Promocaf[®]-The soy protein concentrate for

- milk replacers. Central Soya. Forth Wayne, IN, USA.
- Coblentz, E., J.L.Morrill, D.B. Parrish and A. D. Dayton. 1976. Nutritive value of thermoalkali processed soy materials for young calves and rats. J. Dairy Sci. 59:481.
- Collins, J.L. and B.F. Beaty. 1980. Heat inactivation of trypsin inhibitor in fresh green soybeans and physiological responses of rats fed the beans. J. Food Sci. 45:542.
- Colvin, B. M. and H.A. Ramsey. 1968. Soy flour in milk replacers for young calves. J. Dairy Sci. 51:898.
- Contreras, S. y M.A. Tagle. 1974. Factores tóxicos de leguminosas cultivadas en Chile. III. Hemaglutininas. Arch. Latinoamer. Nutr. 24:191.
- Church, D. C. 1988. El rumiante. Fisiología digestiva y nutrición. Ed. Acribia. Zaragoza, España.
- Díaz-Castañeda, M. and G. J. Brisson. 1987. Replacement of skimmed milk with hydrolyzed fish protein and nixtamal in milk substitutes for dairy calves. J. Dairy Sci. 70:130.
- Dollar, E.M. and W.G. Porter. 1957. The soybean in the nature. Nature 179:299.
- Duvaux, C., J.W. Sissons, L. Heppell, R. Toullec and P. Guilloteau. 1988. Mécanismes impliqués dans la réaction allergique intestinale aux protéines de soja chez le veau prédominant. Reprod. Nutr. Dévelop. 28(Suppl. 1):159.
- Duvaux, C., J.W. Sissons, H.E. Pedersen, P. Guilloteau and R. Toullec. 1990. Digestion of allergic soya protein in the preruminant calf. Reprod. Nutr. Dévelop. 30(Suppl. 2):194s.
- Edwards, J. 1993. Formulación de sustitutos de leche, manejo para mejorar el desarrollo del becerro y control de diarreas.

- Memorias del Curso Avanzado de Nutrición de Rumiantes. Colegio de Postgraduados, Montecillo, Edo. de México, México.
- Edwards, J. 1995. Prácticas establecidas y nuevos avances en la alimentación del ternero a través del destete. Memorias del VII Congreso Nacional de la Asociación Mexicana de Especialistas en Nutrición Animal. Veracruz, Veracruz.
- Edwards-Webb, J. D. 1983. Digestive lipolysis in the preruminant calf. The abomasal hydrolysis of butter oil, coconut oil, palm oil and tallow. *J. Sci. Food Agric.* 34:930.
- Estrada, M.M.I. 1988. Elaboración de un sustituto lácteo deshidratado a partir de un concentrado proteínico de arvejón para alimentación infantil. Tesis Profesional. Facultad de Química. Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- FIRA. 1994. Boletín informativo. XXVI:3, Mayo. México.
- Foley, J.A. and D.E. Otterby. 1978. Availability, storage, treatment, composition, and value of surplus colostrum. A review. *J. Dairy Sci.* 61:1033.
- Fonty, G., and Ph. Gouet. 1988. Establishment of microbial populations in the rumen. Utilization of an animal model to study the role of the different cellulolytic microorganisms *in vivo*. En: The roles of protozoa and fungi in ruminant digestion. Proceedings of an International Seminar held at the University of New England, Armidale, Australia. September, 1988. Eds. J.V. Nolan, R.A. Leng and D.I. Demeyer. Penambul Books. Armidale. NSW.
- Fries, G.F., C.A. Lassiter and C.F. Huffman. 1958. Effect of

- enzyme supplementation of milk replacers on the growth of calves. *J. Dairy Sci.* 41:1081.
- Gallardo, F., H. Araya, N. Pak y M.A. Tagle. 1974. Factores tóxicos de leguminosas cultivadas en Chile. II. Inhibidor de tripsina. *Arch. Latinoamer. Nutr.* 24:183.
- Gardner, R.W., M.G. Shupe, W. Brimhall and D.J. Weber. 1990. Causes of adverse responses to soybean milk replacers in young calves. *J. Dairy Sci.* 73:1312.
- Garlich, J.D. 1988. Calidad de la pasta de soya. ASA/México A.N. No. 80. Asociación Americana de Soya. México, D.F., México.
- Garnot, P., R. Toullec, J.L. Thapon, P. Martin, Minh-Thu Hoang, C. M. Mathieu and B. Ribadeau-Dumas. 1977. Influence of age, dietary protein and weaning on calf abomasal enzymatic secretion. *J. Dairy Sci.* 44:9.
- Gorrill, A.D.L., J.W. Thomas, W.E. Stewart, and J.L. Morrill. 1967. Exocrine pancreatic secretion by calves fed soybean and milk protein diets. *J. Nutr.* 92:86.
- Gorrill, A.D.L. and J.W.G. Nicholson. 1971. Effect of soybean trypsin inhibitor, diarrhea and diet on flow rate, pH, proteolytic enzymes and nitrogen fractions in calf intestinal digesta. *Can. J. Anim. Sci.* 51:377.
- Gulloteau, P., R. Toullec, J.F. Grongnet, P. Patureau-Mirand, J. Prugnaud and D. Sauvant. 1986. Digestion of milk, fish and soya-bean protein in the preruminant calf: flow of digesta, apparent digestibility at the end of the ileum and amino acid composition of ileal digesta. *Brit. J. Nutr.* 55:571.
- Heinrichs, A. J., N.E. Kiernan, R.E. Graves and L.J. Hutchinson.

1987. Survey of calf and heifer management practices in Pennsylvania dairy herds. *J. Dairy Sci.* 70:896.
- Hof, G. 1980. An investigation into the extent to which various dietary components, particularly lactose, are related to the incidence of diarrhea in milk-fed calves. Meded. Landbouwhogeschool Wageningen. Agricultural University Wageningen, The Netherlands.
- Huber, J. T. 1969. Calf nutrition and rearing. Development of the digestive and metabolic apparatus of the calf. *J. Dairy Sci.* 52:1303.
- Huber, J. T. 1975. Fish protein concentrate and fish meal in calf milk replacers. Symposium: Recent advances in calf rearing. *J. Dairy Sci.* 58:441.
- Hughes, J. 1987. Yeast culture applications in calf and dairy diets. A brief appraisal. Ed. T. P. Lyons. En: Proceedings of Alltech's Fourth Annual Symposium. Biotechnology in the Feed Industry. Nicholasville, Kentucky. Alltech's Technical Publications.
- ICA. Instituto de Ciencia Animal. 1983. Los pastos en Cuba. Tomo 22. Utilización. La Habana, Cuba.
- INRA. Institut National de la Recherche Agronomique. 1981. Alimentación de los rumiantes. Mundi-Prensa. Francia-Madrid.
- Jaffe, W.G., A. Levy and Gonzalez, D.I. 1974. Isolation and partial characterization of bean phytohemagglutinins. *Phytochem.* 13:2685.
- Jenkins, K. J., D. B. Emmons, E. Larmond, and F. D. Sauer. 1982. Soluble, partially hydrolized fish concentrate in calf milk replacers. *J. Dairy Sci.* 65:784.

- Jenkins, K. J., J. K. G. Kramer, F. D. Sauer, and D. B. Emmons. 1985. Influence of triglycerides and free fatty acids in milk replacers on calf performance, blood plasma, and lipids. *J. Dairy Sci.* 68:669.
- Kakade, M.L., J.J. Rackis, J.E. McGhee and F. Puski. 1974. Determination of trypsin inhibitors activity of soy products: A collaborative analysis of an improved procedure. *Cereal Chem.* 51:376.
- Kakade, M.L., R.D. Thompson, W.E. Engelstad, G.C. Behrens, R.D. Yoder and F.M. Crane. 1976. Failure of soybean trypsin inhibitor to exert deleterious effects in calves. *J. Dairy Sci.* 59:1484.
- Kerntke, U. 1992. Soya alimento del futuro. *Soya Noticias*. Octubre. Asociación Americana de Soya. México, D.F., México.
- Kilshaw, P.J. and J. W. Sissons. 1979a. Gastrointestinal allergy to soyabean protein in preruminant calves. Antibody production and digestive disturbances in calves fed heated soyabean flour. *Res. Vet. Sci.* 27:361.
- Kilshaw, P.J., and J.W. Sissons. 1979b. Gastrointestinal allergy to soyabean protein in preruminant calves. Allergenic constituents of soyabean products. *Res. Vet. Sci.* 27:366.
- Khorasani, G. R., L. Ozimek, W. C. Sauer, and J. J. Kenelly, 1989. Substitution of milk protein with isolated soy protein in calf milk replacers. *J. Anim. Sci.* 67:1634.
- Knaus, W., W. Wetscherrek, and F. Lettner. 1994. Use of soy protein concentrate in combination with potato protein in milk replacers for veal calves. *Anim. Feed Sci. Technol.* 45:111.

- Labusa, I.P. 1982. Moisture gain and loss in packaged foods. Food Technol. 16:92.
- Lalles, J. P. 1993. Nutritional and antinutritional aspects of soyabean and field pea proteins used in veal calf production: A review. Livestock Prod. Sci. 14:181.
- Lalles, J. P., R. Touleec, P. Bouchez, and L. Roger. 1995a. Antigenicity and digestive utilization of four soya products by the preruminant calf. Livestock Prod. Sci. 41:29-38.
- Lalles, J.P., R. Toulec, P. Branco-Pardal and J.W. Sissons. 1995b. Hydrolyzed soy protein isolate sustains high nutritional performance in veal calves. J. Dairy Sci. 78:194.
- Lassiter, C.A., G.F. Fries. C.F. Huffman, and C.W. Duncan. 1959. Effect of pepsin on the growth and health of young dairy calves fed various milk replacer rations. J. Dairy Sci. 42:666.
- Lewis, M.J. 1994. Propiedades físicas de los alimentos y de los sistemas de procesado. Ed. Acribia, S.A. Zaragoza, España.
- Liener, I.L. 1981. Factors affecting the nutritional quality of soya products. JAACS 58:406.
- Madrigal, L. V. y M. E. Ortega. 1989. Desarrollo de un sustituto de leche para becerras de reemplazo utilizando proteína de soya tratada con etanol. Memorias del Cuarto Congreso Nacional de la Asociación Mexicana de Especialistas en Nutrición Animal. Acapulco, Guerrero.
- Manjarréz, S.B.E. 1987. Procedimiento para la elaboración de una bebida instantánea para infantes a base de cereales, ajonjolí y soya. Tesis Profesional. Universidad

Iberoamericana. México.

- Mbugi, P. K., J. R. Ingalls and H. R. Sharma. 1989. Evaluation of pea protein concentrate as a source of protein in milk replacers for Holstein calves. *Anim. Feed. Sci. Technol.* 24:267.
- Miller, R.L. and H.A. Ramsey. 1978. Effect of various inheated soy preparations on the growth of young calves. *J. Dairy Sci.* 61 (Suppl. 1):182 (Abstr.).
- Mir, P.S., J.H. Burton, B.N. Wilkie and F.R. Van de Voort. 1989. Reduction of β -conglycinin antigenicity and rate of acid pepsin proteolysis of proteins in extruded or rumen fluid treated soybean meal. *Can. J. Anim. Sci.* 69:727.
- Monroe, E.W., C.R. Eddy, M.L. McClennan and M.E. Klumpp. 1952. Detection and estimation of steroidal sapogenins in plant tissue. *Anal. Chem.* 24:1337.
- Morr, C.V., B. German, J.E. Kinsella, J.M. Regenstien, J.P. Van Buren, A. Kilara, B.A. Lewis and M.E. Mangino. 1985. A collaborative study to develop a standardized food protein solubility procedure. *J. Food Sci.* 50:1715.
- Nitsan, Z., R. Volcani, S. Gordin and A. Hasdai. 1971. Growth and nutrient utilization by calves fed milk replacers containing milk or soybean protein concentrate heated to various degrees. *J. Dairy Sci.* 54:1294.
- Nitsan, Z., R. Volcani, A. Hasdai, and S. Gordin, 1972. Soybean protein substitute for milk protein in milk replacers for suckling calves. *J. Dairy Sci.* 55:811.
- Noller, C.H., G.M. Ward, A.D. McGilliard, C.F. Huffman, and C.W. Duncan. 1956. The effect of age of the calf on the

- availability of nutrients in vegetable milk replacer rations. *J. Dairy Sci.* 39:1288.
- NOM. 1986. Norma oficial mexicana para leche en polvo. Dirección General de Normas. Secretaría de Comercio y Fomento Industrial, México.
- NRC. 1978. Nutrient requirements of dairy cattle. The National Research Council. The National Academy of Sciences. Washington, D.C.
- Olivares, R. L. 1991. Efecto de la combinación de distintas fuentes de proteína y almidón en el comportamiento productivo de becerros Holstein. Tesis de Maestría en Ciencias. Centro de Ganadería, Colegio de Postgraduados. Montecillo, Edo. de México, México.
- Petit, H.V., M. Ivan and G.J. Brisson. 1987. Duodenal flow of digesta in preruminant calves fed clotting or nonclotting milk replacer. *J. Dairy Sci.* 70:2570.
- Quillet. 1983. Diccionario Enciclopédico. Ed. Cumbre Mexicana, S.A. de C.V. México.
- Rackis, J.J., D.J. Sessa, F.R. Steggerda, T. Shimizu, J. Anderson and S.L. Pearl. 1970. Soybean factors relating to gas production by intestinal bacteria. *J. Food Sci.* 35:634.
- Rackis, J.J. 1981. Flatulence caused by soya and its control through processing. *JAOCs* 58:503.
- Ramsey, H.A. 1977. Effect of cooking time on the nutritional value of soy flour in milk replacers. *J. Dairy Sci.* 60(Suppl. 1): 73. (Abstr.).
- Reyes, B.D. 1973. Sustitutos de leche de origen vegetal. Tesis Profesional. Facultad de Química. Universidad Nacional

Autónoma de México. México.

- Roy, J. H. B. 1980. *The calf*. Ed. Butterworths. London.
- Ruckebusch, Y., and P. Thivend. 1980. *Digestive physiology and metabolism in ruminants*. Ed. Avi Publishing Company. Lancaster, England.
- SAGAR. 1996. *Avances en la producción pecuaria y forestal*. INEGI. México, D.F., México.
- Sedgman, C. A., J. H. B. Roy and J. Thomas. 1985a. Digestion, absorption and utilization of single-cell protein by the preruminant calf. Abomasal outflow and its composition from calves given milk-substitute diets containing varying amounts of either bacterial or yeast protein. *Brit. J. Nutr.* 53:673-689.
- Sedgman, C. A., J. H. B. Roy, J. Thomas, I. J. F. Stobo and P. Ganderton. 1985b. Digestion, absorption and utilization of single-cell protein by the preruminant calf. The true digestibility of milk and bacterial protein and the apparent digestibility and utilization of their constituent amino acids. *Brit. J. Nutr.* 55:219-244.
- Seegraber, F.J. and J.L. Morrill. 1979. Effect of soy protein on intestinal absorptive ability of calves by the xylose absorption test. *J. Dairy Sci.* 62:972.
- Seegraber, F.J. and J.L. Morrill. 1986. Effect of protein sources in calf milk replacers on morphology and absorptive ability of small intestine. *J. Dairy Sci.* 69:460.
- Sissons, J.W. and R.H. Smith. 1976. The effect of different diets, including those containing soya-bean products, on digesta movement and water and nitrogen absorption in the

- small intestine of the pre-ruminant calf. *Brit. J. Nutr.* 16:421.
- Sissons, J.W., R.H. Smith and D. Hewitt. 1979. The effect of giving feeds containing soya-bean meal treated or extracted with ethanol on digestive processes in the preruminant calf. *Brit. J. Nutr.* 42:477.
- Shoptaw, L. 1936. Soybean flour as a substitute for cow's milk in feeding dairy calves. *J. Dairy Sci.* 19:95.
- Smith, R.H. and J.W. Sissons. 1975. The effect of different feeds, including those containing soya-bean products, on the passage of digesta from the abomasum of the preruminant calf. *Brit. J. Nutr.* 33:329.
- SSA. 1979. Técnicas generales para el análisis microbiológico de alimentos. Cap. V, VII-XI, Dirección General de Salud Pública, México.
- Struthers, B.J. 1981. Lysoalanine: Production, significance and control in preparation and use of soya and other food proteins. *JAOCs* 58:501.
- Tindal, S.S. 1984. Biochemical and histopathological studies in albino rats fed on soybean lectin. *Nutr. Res.* 1:95.
- Tomkins, T. and E. Jaster. 1991. Preruminant calf nutrition. *Vet. Clin. North. Amer. Food Anim. Pract.* 7:557.
- Turner, R.H. and I.E. Liener. 1976. The effect of the selective removal of hemagglutinins in the nutritive value of soybeans. *J. Agr. Food Chem.* 23:484.
- Tzeng, D. and C.L. Davis. Amino acid nutrition of the young calf. Estimation of methionine and lysine requirements. *J. Dairy Sci.* 63:441.

- Waggle, D.H. and C.W. Kolar. 1979. Types of soy protein products.
En: Soy protein and human nutrition. Eds. H. L. Wilcke, D.T.
Hopkins and D.H. Waggle. Academic Press. New York, San
Francisco, London.
- Yvon, M. and Pierre J. 1987. Characterization and kinetics of
evacuation of peptides resulting from casein hydrolysis in
the stomach of the calf. J. Agric. Food Chem. 35:148.

APENDICE**HUMEDAD (AOAC, 1984)****Material y equipo:**

Estufa de secado
Charolas de aluminio
Pinzas
Balanza analítica
Desecador

Procedimiento:

Pesar 2-3 g de muestra previamente molida, ponerla en una charola de aluminio, puesta a peso constante (ponerla en la estufa a 80-100°C por 1 h, pasarla al desecador por 15 min para enfriar y pesar).

La charola con la muestra se coloca en la estufa por 15 a 20 h, transcurrido este tiempo se transfiere a un desecador por 15 min y se obtiene el primer peso, se vuelve a realizar el mismo procedimiento para obtener el segundo peso, el cual debe ser igual primero.

Cálculos:

Humedad (%) =

$$\frac{(\text{peso de la charola} + \text{muestra seca} - \text{peso de la charola}) \times 100}{(\text{peso de muestra})}$$

CENIZAS (AOAC, 1984)**Material y equipo:**

Crisoles de porcelana

Espátula
 Pinzas
 Balanza analítica
 Estufa de gas, parrilla o mechero
 Mufla
 Estufa de secado
 Desecador

Procedimiento:

Los crisoles se ponen a peso constante (durante 1 h a 550°C en la mufla, se transfieren a la estufa a 80-100°C durante 15 min y posteriormente al desecador por 15 min).

Se pesan los crisoles a los cuales se les agregan 2 a 3 g de muestra.

Los crisoles con muestra se llevan a la estufa o parrilla para carbonizar la muestra, hasta que desaparezca el humo blanco.

Se colocan los crisoles con la muestra en la mufla a 550°C durante 1 h para calcinar la muestra.

Pasar los crisoles a la estufa de secado a 80-100°C, durante 30 min, posteriormente 15 min al desecador y pesar.

Cálculos:

$$\text{Cenizas (\%)} = \frac{A - B}{C} \times 100$$

A = Peso del crisol + cenizas

B = Peso del crisol + muestra

C = Peso de la muestra

EXTRACTO ETereo (AOAC, 1984)**Material y equipo:**

Vasos Goldfish
Cartuchos de celulosa o porcelana
Soportes metálicos
Algodón
Papel filtro Whatman # 42
Equipo Goldfish
Pinzas
Espátula
Balanza analítica
Colector
Probeta

Reactivos:

Eter anhidro, éter de petróleo o hexano.

Procedimiento:

Poner los vasos a peso constante y pesarlos. Preparar los cartuchos con una cama de algodón.

En el papel filtro colocar 2-3 g de muestra envolviéndola como cartucho, cerrar y tapar con otra cama de algodón. Colocar el cartucho en el soporte y éste a su vez en el Goldfish.

Bajo campana de extracción agregar a cada vaso 50 ml de éter, tomando el vaso con las pinzas, acomodándolo en el anillo para embonarlo al aparato de Goldfish.

Abrir la llave de agua y encender el aparato. A partir de que la ebullición sea estable se deja por 1 h; cuando la muestra contenga mucha grasa se deberá dejar más tiempo en

ebullición.

Recolectar el éter hasta que en el interior del vaso solamente quede la grasa.

Colocar en la estufa a 80-100°C por 10 min, posteriormente pasar a un desecador por 15 min. Pesar el vaso con la grasa.

Cálculos:

$$\text{Extracto etéreo (\%)} = \frac{A - B}{C} \times 100$$

C

A = Peso del vaso + grasa

B = Peso del vaso vacío

C = Peso de la muestra

FIBRA CRUDA (AOAC, 1984)

Material y equipo:

Vasos Berzelious

Embudo californiano (Buchner)

Pizeta

2 vasos de precipitado de 200 ml

1 vaso de precipitado de 500 ml

Perlas de ebullición

Matraces volumétricos de 1 l

Crisoles de porcelana

Una olla de 1 l

Estufa de gas

Pipeta de 10 ml

Balanza analítica

Espátula

Desecador

Pinzas
Estufa de secado
Mufia
Matraz Kitasato

Reactivos:

Acido sulfúrico al 1.25%
Hidróxido de sodio al 1.25%
Agua destilada caliente
Asbesto tratado

Procedimiento:

La muestra deberá estar previamente desgrasada y seca. Se colocan aproximadamente 2 g de muestra en un vaso Berzelius.

Se agregan 3 a 4 perlas de ebullición más 200 ml de ácido sulfúrico al 1.25% y una pizca de asbesto tratado, se coloca en el aparato para fibra.

Para calentar el aparato se se pone a la temperatura más alta (H) y cuando empieza la ebullición se baja al número 3, dejándose por 30 min en ebullición.

Durante este lapso se pone a calentar el agua destilada.

Transcurridos los 30 min de ebullición se saca la muestra y se filtra a través del embudo california, el cual debe estar conectado a una llave de vacío.

Enjuagar hasta que el pH sea neutro (7) con el agua destilada caliente.

Ya que está bien lavada la muestra se regresa al vaso, adicionando 200 ml de hidróxido de sodio al 1.25%, se deja

digerir por 30 min y se filtra nuevamente con agua destilada hasta que el pH sea neutro (7).

La muestra se vacía en un crisol y se coloca en la estufa 80-100°C por 1 h, posteriormente se coloca en un desecador por 15 min y se pesa (peso seco). Se introduce a la mufla a 600°C por 1 h, se pasa a la estufa por 30 min, finalmente al desecador por 15 min y se pesa (peso calcinado).

Cálculos:

Fibra cruda (%) = $\frac{\text{Peso seco} - \text{Peso calcinado}}{\text{Peso de la muestra}} \times 100$

PROTEINA CRUDA (AOAC, 1984)

Digestión:

Material y equipo:

Matraces Kjeldhal de 800 ml
 Perlas de ebullición
 Papel copia
 Aparato Kjeldhal
 Probeta de 50 ml
 Vaso de precipitado de 250 ml
 Mortero
 Balanza analítica

Reactivos:

Sulfato de potasio
 Sulfato de cobre
 Dióxido de selenio
 Acido sulfúrico concentrado

ESTA TESIS NO DEBE
 SALIR DE LA BIBLIOTECA

Preparación de la mezcla digestora:

Se pesan 200 g de sulfato de potasio + 20 g de sulfato de cobre + 5 g de dióxido de selenio, se muelen con el mortero, debiendo quedar la mezcla completamente molida y mezclada.

Procedimiento:

Se pesan de .5 a 1 g de muestra y se coloca en un cuadro de papel copia, se envuelve y coloca en un matraz Kjeldhal, se agregan 8.5 g de mezcla digestora y 3 perlas de ebullición, por último se agregan 25 ml de ácido sulfúrico concentrado y se coloca en el digestor. Cuando la muestra se empieza a digerir toma un color café oscuro, cuando cambia a color verde esmeralda se deja por 30 min y se apaga, dejándose enfriar.

Destilación:**Material y equipo:**

Matraces Erlenmeyer de 500 ml
Bureta de 50 ml
Vaso de precipitado de 100 ml
Equipo Kjeldhal

Reactivos:

Acido bórico al 2%
Acido sulfúrico .1 N (valorado)
Zinc
Indicador rojo de metilo
Agua destilada
Hidróxido de sodio al 50%

Procedimiento:

En un matraz Erlenmeyer se colocan 50 ml de ácido bórico y unas gotas (aproximadamente 5) de rojo de metilo, éste se coloca en el destilador del aparato de Kjeldhal, introduciendo en el matraz la manguera que conecta con el destilador.

A la muestra digerida se le agregan 100 ml de agua destilada más una pequeña cantidad de zinc y 90 ml de hidróxido de sodio. y se coloca en el destilador, teniendo cuidado que éste no tenga fugas, la destilación se detiene cuando se tengan 250 ml del destilado en el matraz Erlenmeyer.

Titulación:

Los 250 ml del destilado se titulan con ácido sulfúrico valorado, anotando la cantidad gastada.

En cada determinación se debe tener un blanco (preparación sin muestra).

Cálculos:

Nitrógeno total (%) =

$$\frac{(\text{ml de ácido muestra problema} - \text{ml de ácido del blanco}) \times \text{normalidad del ácido} \times 0.014}{\text{gramos de muestra}} \times 100$$

Proteína cruda (%) = Nitrógeno total (%) X 6.25

SOLUBILIDAD DE LA PROTEINA (Morr et al., 1985)**Fundamento:**

Los productos proteínicos son ingredientes muy importantes en una gran variedad de productos alimenticios, éstos normalmente se secan por aspersión y deben en la mayoría de los casos tener

un alto grado de solubilidad, para que sean funcionales.

La solubilidad de estos productos proteínicos depende del estado fisicoquímico de las proteínas, las cuales son afectadas favorable o adversamente por el calentamiento, el secado y otros tratamientos durante su manufactura y almacenamiento.

La solubilidad de la proteína se expresa comunmente como nitrógeno soluble en agua, índice de solubilidad de nitrógeno, proteína soluble en agua o índice de dispersabilidad de la proteína.

Material y equipo:

Matraz Erlenmeyer de 150 ml
Barra magnética de 2 cm
Agitador mecánico
Potenciómetro o papel pH
Matraz volumétrico de 50 ml
Papel Whatman # 1
Equipo Kjeldhal
2 pipetas Pasteur y bulbos de goma
3 embudos

Preparación de reactivos:

NaCl 0.1 M. Pesar 5.84 g de NaCl y se afora a 1 l.
HCl 0.1 N. Diluir 8.5 ml de HCl concentrado (36 - 38.5%) a 1 l.
NaOH .1 N. Disolver 100 g en 100 ml de agua destilada, filtrar y diluir 4.5 ml en 100 ml de agua destilada, titular.

Preparación:

Pesar .5 g de la muestra seca en un matraz Erlenmeyer de 150 ml, adicionar pequeñas porciones de NaCl 0.1 M hasta obtener una pasta suave.

Añadir NaCl 0.1 M hasta completar 40 ml y colocar el matraz en un agitador magnético, cubierto por una estera perforada de plástico, cubierta con malla de 5 X 5 cm, para aislar el matraz y prevenir calentamiento durante el siguiente periodo de agitación.

Colocar una barra magnética de 2.5 cm lisa y someter a agitación de manera que se forme un vortex durante una hora.

Se determina el pH de la dispersión inmediatamente y se ajusta a 7 con HCl 0.1 N o NaOH 0.1 N, manteniendo el pH deseado durante la hora de agitación.

La dispersión se pasa a un matraz volumétrico de 50 ml aforado con NaCl 0.1 M, mezclando después por inversión del matraz. Se centrifuga una alícuota a 20,000/g durante 30 min y la fracción sobrenadante se filtra con papel Whatman # 1. Se determina la proteína al filtrado por la técnica de micro-Kjeldhal o biuret, usando alícuotas de volumen apropiado.

Cálculos:

Solubilidad de nitrógeno (%) =

$$\frac{\text{Concentración de nitrógeno en el sobrenadante (mg/ml)} \times 50 \times 100}{\text{Peso de la muestra (mg)} \times (\% \text{ nitrógeno en la muestra}/100)}$$

INHIBIDOR DE TRIPSINA (Kakade et al., 1974)**Fundamento:**

Este método se basa en la absorbancia a 410 nm de extractos

de soya a los que se agregan soluciones de BAPA (benzoil-DL-arginina-*p*-nitroanilina) y tripsina.

Material y equipo:

Espectrofotómetro

Tubos de ensaye

Agitador de tubos

Pipetas de 5, 2 y 1 ml

Matraces aforados de 100 y 200 ml

Matraces Erlenmeyer de 125 ml

Cronómetro

Papel Whatman # 2 y 3

Preparación de reactivos:

Buffer-Tris (0.05 M, pH 8.2): 0.02 M CaCl_2 :6.05 g tris (hidroximetilamino metano) y 2.94 g $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ se disuelven en 900 ml de agua. El pH se ajusta a 8.2 y se lleva a 1 l con agua.

Solución de BAPA: se disuelven 40 mg de benzoil-DL-arginina-*p*-nitroanilina (BAPA) en 1 ml de sulfóxido de dimetil, diluidos en 100 ml de tris-buffer precalentado a 37°C. La solución de BAPA debe prepararse diariamente y mantenerse a 37°C, mientras se usa.

Solución de tripsina: en 200 ml de ácido clorhídrico 0.001 M, se disuelven 4 mg exactos de tripsina (2X cristalizada, libre de sales). Esta mezcla puede almacenarse en refrigerador hasta por 2 a 3 semanas sin que haya pérdida de actividad de la tripsina.

Preparación de la muestra:

Las muestras con más de 2% de grasa deberán desengrasarse

previamente con pentano-hexano, o bien hexano a temperatura ambiente. Posteriormente se muelen finamente (malla 100), sin que haya calentamiento.

Procedimiento:

Extraer 1 g de la muestra con 50 ml de NaOH 0.01 N durante 3 h, a temperatura ambiente (el pH de la solución deberá ser de 8.4 a 10), centrifugar. Después de este tiempo, diluir la suspensión de tal manera que 1 ml produzca la inhibición del 40 al 60% de la tripsina. Pipetear porciones de 0, 0.6, 1.0, 1.4 y 1.8 ml de la suspensión en tubos de ensayo por duplicado y aforar cada tubo a 2 ml con agua. Agregar 2 ml de la solución de tripsina a cada tubo y colocar en baño de agua a 37°C.

Agregar 5 ml de la solución sustrato (que deberá estar a 37°C), a cada uno de los tubos de ensayo por duplicado y exactamente a los 10 min parar la reacción de cada uno de ellos, adicionando 1 ml de ácido acético al 30% con agitación (se recomienda agregar los 5 ml del BAPA con intervalo de 1 min) y sacar del baño.

Preparación del blanco de muestra:

En un tubo de ensayo se colocan 2 ml de la suspensión de muestra, 2 ml de tripsina, 1 ml de ácido acético, 5 ml de BAPA, incubar 10 min a 37°C, sacar del baño.

Preparación del blanco de reactivos:

Proceder en igual forma que en la preparación del blanco de muestra; sólo que en lugar de 2 ml del extracto de muestra, se

colocan 2 ml de agua.

Preparación del blanco de actividad:

El blanco de actividad corresponde al primer tubo con 0 ml de la suspensión.

Al final se filtra el contenido de los tubos a través de papel Whatman # 2 y 3, leer la absorbancia a 410 nm contra blanco de reactivos.

Cálculos:

La actividad del inhibidor se mide con respecto a la cantidad de actividad inhibida de tripsina. La actividad de tripsina expresada en términos de unidades de tripsina (UT), se determina por el aumento de absorbancia a 410 nm/ml de la mezcla de reacción bajo las condiciones de prueba. Una unidad del inhibidor de tripsina se expresa como unidades de inhibidor de tripsina (UIT). Una unidad del inhibidor es igual a una unidad de tripsina inhibida.

Unidades de tripsina inhibida (UIT) = Unidades de tripsina (UT) -
Unidades de tripsina (muestra).

$$\text{UIT/ml} = \frac{\text{UIT inhibida}}{\text{Volumen de la muestra (ml)}}$$

Promediar los valores obtenidos para cada volumen de extracto y éste será el valor final de UIT/ml.

Reportar actividad del inhibidor de tripsina como unidades de inhibidor de tripsina por gramo de muestra, o bien por mg de muestra: $\text{UIT/g} = \text{UIT} \times \text{F.D.}$

F.D. = Factor de dilución

Nota: Son puntos importantes que la temperatura y el tiempo de reacción sean exactos, así como pesar exactamente.

HEMAGLUTININAS (Jaffé et al., 1974)

Fundamento:

Se basa en la aglutinación de eritrocitos con soluciones de cloruro de sodio y tripsina.

Material y equipo:

Pipetas serológicas de 0.05 y 1 ml

Pipetas volumétricas de 5 y 10 ml

Embudos

Equipo micro-titer (Cooke Dinattech)

Papel filtro Whatman # 1

Baño metabólico

Centrífuga

Reactivos:

Solución de NaCl al 1 %

Solución de NaCl al 0.9%

Solución de tripsina al 0.1% en NaCl

Papel Whatman # 1

Preparación de los extractos:

Se muele y coloca 1 g de muestra en 10 ml de NaCl al 1% y se extrae 2 h con agitación lenta (baño metabólico en 5.8 vel.), pasadas las 2 h se centrifuga a 2500 rpm/15 min, posteriormente se filtra en papel Whatman # 1. Finalmente se congela o deja reposar en frío (4°C), durante 12 h.

Preparación de los eritrocitos:

5 ml de sangre de vaca, conejo y humano se lava 4 veces con 10 ml de solución de NaCl al 0.9%, centrifugando a 2000 rpm/15 min entre cada lavada, después de eliminar el sobrenadante, el paquete de eritrocitos se lleva a una concentración final de 6.6% con la solución de NaCl al 0.9%.

Actividad de los glóbulos rojos con tripsina:

9 ml de la suspensión de glóbulos rojos se tratan con 1 ml de solución de tripsina al 0.1% en NaCl y se dejan reposar por 1 h a 37°C, pasado este tiempo se lavan 3 veces con solución de NaCl al 0.9%, llevando a una concentración del 10% en los lavados y al final al 6.6%.

Métodos:

Un volumen de 0.025 ml o 0.050 ml del extracto inicial se diluye sucesivamente con la solución de NaCl 0.9% en un equipo micro-titer, agregando posteriormente a cada una de las diluciones un volumen equivalente de la suspensión de eritrocitos. La aglutinación se lee a los 30 y 60 min. Los resultados se reportan como la máxima dilución que produce aglutinación visible en 60 min.

SAPONINAS (Monroe et al., 1952)**Fundamento:**

Las saponinas tienen la particularidad de disminuir la tensión superficial, por lo que la formación de espuma en soluciones se utiliza para detectar su presencia.

Material y equipo:

Saponina pura
Tubos de ensayo
Gradilla
Agitador de tubos vortex

Procedimiento:

La muestra deberá estar desgrasada previamente con éter o hexano. Se colocan 0.1 g de la muestra desgrasada en un tubo de ensayo. Se adicionan 5 ml de agua y se agita a la máxima velocidad por 1 min exactamente. Se deja reposar por 15 min. Al mismo tiempo se corre un blanco de saponina pura (0.1 g de saponina + 5 ml de agua) y se procede de la misma manera que en la muestra problema.

Pasados los 15 min se observa la altura de la espuma y se compara con el blanco. La aparición de espuma abundante dará como positivo a la presencia de saponinas.