

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE QUERETARO
FACULTAD DE QUIMICA
MAESTRIA EN CIENCIA Y TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

“ PERSPECTIVAS DE APLICACION PARA LA PROTEINA DE AJONJOLI
(*Sesamum indicum L*) EN PRODUCTOS ALIMENTICIOS ”

T E S I S

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de

MAESTRO EN CIENCIAS

Presenta:

Alicia Cano Medina

Dirigido por:

M.C. Eleazar M. Escamilla Silva

SINODALES

M.C. Eleazar M. Escamilla Silva
Presidente

Dra. Elvira González de Mejía
Secretario

Dra. Martha O. Martín Polo
Vocal

M.C. Teresa del Carmen Flores Flores
Suplente

Dra. Ana Paulina Barba de la Rosa
Suplente

Q.M. José Merced Esparza Uribe
Director de la Facultad de Química

Firma

Firma

Firma

Firma

Firma

M.C. Issac Silva Barrón
Director de Estudios de Posgrado

No Adq. 55572

No. Título _____

Clas. 547.752

C 227 p

1995



UNIVERSIDAD AUTONOMA DE QUERETARO
FACULTAD DE QUIMICA
MAESTRIA EN CIENCIA Y TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

“ PERSPECTIVAS DE APLICACION PARA LA PROTEINA DE AJONJOLI
(*Sesamum indicum L*) EN PRODUCTOS ALIMENTICIOS ”

T E S I S

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de

MAESTRO EN CIENCIAS

Presenta:

Alicia Cano Medina

Dirigido por:

M.C. Eleazar M. Escamilla Silva

SINODALES

M.C. Eleazar M. Escamilla Silva
Presidente

Dra. Elvira González de Mejía
Secretario

Dra. Martha O. Martín Polo
Vocal

M.C. Teresa del Carmen Flores Flores
Suplente

Dra. Ana Paulina Barba de la Rosa
Suplente

Q.M. José Merced Esparza Uribe
Director de la Facultad de Química

Firma

Firma

Firma

Firma

Ana Paulina Barba

Firma

M.C. Issac Silva Barrón
Director de Estudios de Posgrado

No Adq. 55572
No. Título _____
Clas. 547.752
C 227 P
1995

El sitio de trabajo para esta tesis fue el Instituto Tecnológico de Celaya, en el Laboratorio de Investigación y Desarrollo del Depto. de Ingeniería Química (área de química pesada), Lab. de Alimentos, Lab. de Análisis Industriales y Lab. de Investigación en Microbiología y Análisis de Alimentos.

A G R A D E C I M I E N T O S

De manera particular y sincera, agradezco a las siguientes personas que dedicaron su tiempo y experiencia en el mejoramiento de este trabajo.

Martha Martín, Elvira González, Ana Paulina Barba, Tere Flores y Eleazar Escamilla.

Agradezco también la colaboración y el apoyo que durante el desarrollo del trabajo, prestaron las siguientes instituciones:

- UNIVERSIDAD AUTONOMA DE QUERETARO, Facultad de Química
- INSTITUTO TECNOLOGICO DE CELAYA, Departamento de Ingeniería Química
- CINVESTAV (Centro de Investigación y de Estudios Avanzados, Unidad México)
- CINVESTAV (Centro de Investigación y de Estudios Avanzados, Unidad Irapuato)
- ICIDCA (Instituto Cubano de Investigación de Derivados de la Caña de Azúcar)
- *** & CIAD (Centro de Investigación en Alimentos y Desarrollo) ***
- CEACA (Centro de Estudios Académicos sobre Contaminación Ambiental, UAQ)
- CONACYT (Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología)

Por la confianza otorgada para llevar a cabo este proyecto y la enseñanza adquirida, GRACIAS
Ing. Escamilla.

DEDICATORIA

Con cariño a:

Alicia y Jesús, mis papás

Miguel, Imelda y Rubén, mis hermanos

Por contar con su amistad...

MPMB, NMG, MGM, PAM, DJJ

MBFL, BEME, FFL, CPAL, AVG, HHE

NUH, MGSC, RLD, FJAJ, DPA, MRCG, JLRMG, RDVD

PSR, MSBM, MVHR, MRMS, JLRT, NRG

PGC, RAAG, JRM, CPP, LSF, MGMT

HGRM, AEB, HPC, OGG, ARB, NCR

Dn. Gil

Katihuzca y Sara

Angélica y Rosy

	Pág.
INDICE DE TABLAS	i
INDICE DE FIGURAS	iii
I RESUMEN	1
II INTRODUCCION	2
III REVISION DE LA LITERATURA	4
A. Generalidades de la semilla de ajonjolí	4
1. Aspectos históricos	4
2. Estructura macroscópica	4
3. Factores agronómicos y ambientales	5
4. Cosecha y almacenamiento	8
5. Producción	9
6. Utilización	11
B. El interés de los compuestos químicos del ajonjolí	13
1. Aceite	13
2. Proteína	15
2.1 <i>Caracterización</i>	15
2.2 <i>Aporte de aminoácidos</i>	16
2.3 <i>Digestibilidad</i>	18
2.4 <i>Relación de eficiencia proteínica (PER)</i>	18
2.5 <i>Evaluación en nutrición humana</i>	19
2.6 <i>Funcionalidad</i>	20
3. Carbohidratos	21

	Pág.
4. Vitaminas y minerales	21
4.1 <i>Biodisponibilidad de calcio</i>	21
4.2 <i>Importancia del selenio</i>	25
5. Factores antinutricionales	25
5.1 <i>Acido oxálico</i>	26
5.2 <i>Acido fítico</i>	27
5.3 <i>Selenio</i>	27
5.4 <i>Fibra cruda</i>	28
5.5 <i>Inhibidores de tripsina</i>	29
C. Estudio sobre la extracción de proteínas de ajonjolí	29
1. Métodos generales de extracción	30
1.1 <i>Efecto químico de los tratamientos térmicos y alcalinos sobre las proteínas</i>	32
2. Optimización del método de extracción de la proteína	34
3. Purificación	37
IV JUSTIFICACION DEL PROBLEMA	39
A. Escasez en el mundo de fuentes alimentarias	39
B. Importancia de la proteína de ajonjolí	39
C. Obtención de la proteína de ajonjolí a partir de subproductos de industrias aceiteras	40
V HIPOTESIS	41
A. Hipótesis nula	41
B. Hipótesis alternativas	41
VI OBJETIVOS	42
A. Objetivo general	42
B. Objetivos específicos	42

	Pág.
VII MATERIALES Y METODOS	43
A. Materiales	43
1. Materia prima	43
2. Reactivos químicos	43
B. Métodos	44
1. Obtención preliminar de la proteína de ajonjolí bajo diferentes condiciones	44
1.1 <i>Acondicionamiento de la materia prima</i>	44
1.2 <i>Recuperación de la proteína a nivel laboratorio</i>	44
2. Análisis de la proteína mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC)	46
2.1 <i>Principio de la técnica</i>	46
2.2 <i>Procedimiento del análisis por calorimetría diferencial de barrido</i>	47
3. Recuperación de la proteína a nivel semipiloto	48
4. Análisis químico proximal	49
5. Estudio fisicoquímico y funcional de la proteína de ajonjolí	49
5.1 Análisis fisicoquímico	49
5.1.1 <i>pH</i>	49
5.1.2 <i>Densidad a granel</i>	49
5.1.3 <i>Poder calórico</i>	49
5.1.4 <i>Lisina disponible</i>	51
5.2 Propiedades funcionales	52
5.2.1 <i>Absorción de agua y aceite</i>	52
5.2.2 <i>Digestibilidad <u>in vitro</u></i>	52
5.2.3 <i>Gelificación</i>	53
5.2.4 <i>Solubilidad</i>	54
5.2.5 <i>Viscosidad</i>	54
5.2.6 <i>Actividad y estabilidad emulsificante</i>	54
5.2.7 <i>Capacidad y estabilidad de la espuma formada</i>	55

	Pág.
6. Identificación de compuestos antinutricionales mediante técnicas <i>in vitro</i>	55
6.1 <i>Inhibidores de tripsina</i>	55
6.2 <i>Hemaglutininas</i>	56
6.3 <i>Acido fítico</i>	58
7. Determinación de metales por absorción atómica	59
7.1 <i>Calcio, arsénico y plomo</i>	59
7.2 <i>Selenio y mercurio</i>	59
8. Evaluación microbiológica	61
8.1 <i>Cuenta estándar total</i>	61
8.2 <i>Hongos y levaduras</i>	61
8.3 <i>Coliformes</i>	61
9. Elaboración de yogurt suplementado con proteína de ajonjolí	61
10. Análisis sensorial	62
10.1 Evaluación preliminar	62
10.2 Diseño del estudio sensorial	62
10.2.1 <i>Prueba de hipótesis</i>	62
10.2.2 <i>Tipo de prueba sensorial</i>	64

VIII RESULTADOS Y DISCUSION 67

1. Obtención preliminar de la proteína de ajonjolí bajo diferentes condiciones	67
a. Acondicionamiento de la materia prima	67
b. Recuperación de la proteína a nivel laboratorio	67
2. Análisis de la proteína mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC)	67
3. Recuperación de la proteína a nivel semipiloto	74
4. Análisis químico proximal	75

	Pág.
5. Propiedades fisicoquímicas y funcionales de la proteína de ajonjolí	75
a. Gelificación	80
b. Solubilidad	82
c. Viscosidad	84
d. Actividad y estabilidad emulsificante	88
e. Capacidad y estabilidad de la espuma formada	94
6. Compuestos antinutricionales	96
a. Inhibidores de tripsina	96
b. Hemaglutininas	98
c. Acido fítico	98
7. Detección de metales pesados	98
8. Evaluación microbiológica	99
9. Elaboración de yogurt	102
10. Análisis sensorial	102
IX CONCLUSIONES	105
X PERSPECTIVAS FUTURAS	107
XI BIBLIOGRAFIA	108

	Pág.
1. Superficie, rendimiento y producción de ajonjolí en el mundo en 1976 y 1991 (FAO, 1977; 1991).	10
2. Producción de ajonjolí en México (INEGI, 1990; SARH, 1991, 92).	12
3. Propiedades del aceite de ajonjolí (Lyon, 1972).	14
4. Contenido de aminoácidos esenciales en cinco variedades de ajonjolí (Evans y Bandemer, 1967).	17
5. Lista de carbohidratos presentes en la semilla de ajonjolí (Wankhede y Tharanathan, 1976).	22
6. Composición nutricional complementaria de la semilla de ajonjolí (Kik, 1955).	23
7. Solubilidad de la proteína de ajonjolí en soluciones acuosas (Taha et al., 1987).	35
8. Solubilidad de las proteínas de ajonjolí en soluciones alcalinas (Taha et al., 1987).	36
9. Condiciones del proceso de obtención de la proteína de ajonjolí a partir de harina desengrasada.	45
10. Método resumido para la determinación de inhibidores de tripsina (Kakade, 1974).	57
11. Condiciones de lectura por absorción atómica para metales pesados (Perkin-Elmer, 1982).	60

	Pág.
12. Formulaciones del yogurt elaborado.	63
13. Temperaturas y entalpía de transición de los concentrados proteínicos de ajonjolí bajo diferentes condiciones de obtención.	69
14. Composición química de los productos de ajonjolí y el aislado de soya.	76
15. Propiedades físico-funcionales del concentrado proteínico de ajonjolí y del aislado de soya.	77
16. Comparación de gelificación entre el concentrado proteínico de ajonjolí y el aislado de soya en función del pH.	81
17. Compuestos antinutricionales en muestras de ajonjolí.	97
18. Presencia de metales pesados en las muestras de ajonjolí y en el aislado de soya.	100
19. Calidad microbiológica de las muestras de ajonjolí y del aislado de soya.	101
20. Resultados estadísticos del análisis sensorial de yogurt.	104

	Pág.
1. Estructura macroscópica del ajonjolí (Vaughan, 1970).	6
2. Efecto del pH sobre la extracción de materiales nitrogenados a partir de harina desengrasada de ajonjolí con solución de cloruro de sodio al 10 % (Okubo et al., 1979).	31
3. Perfil de solubilidad de la proteína de ajonjolí en soluciones acuosas a diferente pH (Guerra y Park, 1975).	33
4. Efecto de algunos factores sobre la extracción de proteínas de ajonjolí (Cano-Medina, 1992).	38
5. Termogramas representativos del análisis de calorimetría diferencial de barrido de la proteína de ajonjolí (secado por liofilizado).	70
6. Termogramas representativos del análisis de calorimetría diferencial de barrido de la proteína de ajonjolí (secado por aspersion).	71
7. Perfil de solubilidad de la proteína de ajonjolí y de la proteína de soya al 1 %, en función del pH a temperatura ambiente.	83
8. Perfil de viscosidad de la proteína de ajonjolí y de la proteína de soya a pH 7, 25 °C.	85
9. Perfil de viscosidad de la proteína de ajonjolí en función del pH, 25 °C.	86
10. Perfil de viscosidad de la proteína de soya en función del pH, 25 °C.	87

11. Actividad y estabilidad de emulsión del concentrado de ajonjolí y el aislado de soya en función de la concentración de proteína y del pH. 90
12. Actividad y estabilidad de emulsión del concentrado de ajonjolí y el aislado de soya en función de la concentración de proteína y de la concentración de aceite. 91
13. Actividad y estabilidad de emulsión del concentrado de ajonjolí y el aislado de soya en función del pH y de la concentración de aceite. 93
14. Capacidad y estabilidad de espuma del concentrado de ajonjolí y el aislado de soya en función del pH y de la concentración de proteína. 95

En México existen regiones que son aptas para el cultivo de diferentes granos y semillas, entre los cuales se encuentra el ajonjolí. El cultivo del ajonjolí principalmente se aprovecha en la producción de aceite comestible y el subproducto generado normalmente se destina al consumo animal, o en ocasiones es motivo de contaminación. Para aprovechar este subproducto (pastas residuales) en la alimentación humana, se planteó una estrategia que permite darle otra aplicación, ya que se caracteriza por un buen aporte de aminoácidos esenciales.

Se trabajó con harina desengrasada por prensado a la que se le disminuyó el aceite residual con solvente y a partir de la harina obtenida se hicieron diferentes extracciones de proteína en medio acuoso. Los extractos que se obtuvieron se secaron por dos métodos: liofilizado y aspersion. A través de un análisis por calorimetría diferencial de barrido, se seleccionó la extracción con menor nivel de desnaturalización de la proteína debido al procesamiento y se le determinaron propiedades funcionales. Se estimó la calidad microbiológica y toxicológica de la muestra proteínica obtenida y se elaboró un producto alimenticio (yogurt) adicionado con dicha muestra. Finalmente se llevó a cabo un análisis sensorial de tipo afectivo para determinar la aceptación del yogurt elaborado.

El método seleccionado para obtener la proteína con un menor grado de desnaturalización (según el análisis térmico y costeable) fue la extracción a pH 9 sin precipitación isoelectrica, sin neutralización y secado por aspersion. La temperatura de desnaturalización que se registró fue de 124.5 °C comparable a la de avena y soya. El contenido de proteína en la muestra fue de 51.5 %, por lo que se clasificó como un concentrado proteínico. Los resultados de funcionalidad fueron satisfactorios al compararse con un aislado comercial de soya y los ensayos de factores antinutricionales no mostraron resultados de riesgo. El análisis sensorial indicó una aceptación generalizada entre los jueces, ya que el concentrado proteínico no alteró el sabor del yogurt y tampoco generó cambios desagradables en la consistencia del mismo. De acuerdo a los resultados obtenidos, se establece que el aprovechamiento de pastas residuales de ajonjolí se puede enfocar hacia la obtención de concentrados o aislados proteínicos, siendo éstos una alternativa de aplicación en alimentos por sus características de funcionalidad y aceptación por consumidores potenciales.

La semilla de ajonjolí (*Sesamum indicum* L.) es una oleaginosa que pertenece a la familia de las Pedaliaceas y que es característica de regiones tropicales y subtropicales. En nuestro país la variedad de climas y suelos permite el desarrollo de cultivos como éste, siendo los principales estados productores Sonora, Michoacán, Jalisco, Oaxaca, Veracruz y Sinaloa.

Este cultivo ha sido considerado como una fuente de aceite comestible de gran valor, ya que contiene alrededor del 40 % de ácido oleico, 40 % de ácido linoleico y casi el 1 % de ácido linolénico; además, se caracteriza por componentes antioxidantes que le dan una buena estabilidad. Asimismo, el contenido y la calidad de la proteína, hacen del ajonjolí una alternativa para el aprovechamiento de este componente nutritivo a partir de las pastas residuales derivadas de la extracción del aceite (Lyon, 1972).

El porcentaje de proteína en la harina desengrasada (< 1 % de aceite), es alrededor del 60 % y se considera de buena calidad por su valor de digestibilidad (> 80 %) y su contenido de aminoácidos azufrados como metionina y cistina (Villegas et al., 1968). No obstante, la lisina es el aminoácido que limita la calidad de la proteína de ajonjolí, ya que su contenido oscila entre 2.5 y 3.0 %, en comparación con la referencia de la FAO que es alrededor del 4.2 %. Sin embargo, en otras investigaciones la suplementación con este aminoácido en dietas a base de proteína de ajonjolí para roedores (ratas), permitió aumentar la relación de eficiencia proteínica hasta un valor de 2.9 (Joseph et al., 1962).

En cuanto a su caracterización, la proteína de ajonjolí presenta fracciones con pesos moleculares entre 17,000 y 51,000 daltones, las que han sido determinadas mediante técnicas de electroforesis (Guerra y Park, 1975).

Uno de los inconvenientes de interés en la semilla de ajonjolí es la cantidad de ácido oxálico que presenta en la cascarilla, siendo éste el responsable de un color no deseable y un ligero sabor amargo. Para resolver este problema se tiene en consideración el empleo de métodos de descascarillado, ya sean en forma química o mecánica (Johnson et al., 1979). Otros compuestos indeseables que pueden estar contenidos en el ajonjolí son los alergénicos que, como en la mayoría de las plantas, le pueden ser útiles en su etapa de desarrollo. No obstante, se descarta la presencia de factores antinutricionales como inhibidores de tripsina (Rastogi et al., 1962).

Debido a las características notables que presenta el ajonjolí y particularmente por las cualidades de su proteína, se han llevado a cabo varios estudios en los que se avala el empleo de aislados proteínicos como fuente no convencional y suplementaria en alimentos para el hombre, teniendo en cuenta que en el mundo existen severos casos de desnutrición y que en un futuro el aprovechamiento de proteínas vegetales pueda solventar los problemas originados por la escasez de alimentos convencionales ricos en proteínas que hasta el momento están siendo explotados.

El objetivo del presente estudio es la obtención de la proteína de ajonjolí y su aplicación en un producto alimenticio. Se plantea la determinación de un método para extraer la proteína con el menor grado de desnaturalización posible y el análisis correspondiente de carácter antinutricio, microbiológico y funcional de la proteína. A partir de lo anterior se espera confirmar las bases para proponer al ajonjolí como una fuente importante de proteína vegetal que sea utilizada como suplemento nutricional o aditivo en alimentos.

A. Generalidades de la Semilla de Ajonjolí.

1. Aspectos históricos.

El ajonjolí (*Sesamum indicum* L.) es un miembro del orden Turbiflorae y de la familia Pedaliaceae, que comprende 16 géneros y algunas 60 especies de las cuales se han descrito 36 en el índice Kewensis, siendo tal vez, la oleaginosa más antigua conocida por el hombre (Weiss, 1983).

Existen evidencias arqueológicas que indican que el ajonjolí se cultivó en Palestina y Siria hacia el año 3000 a.C. y en las civilizaciones de Babilonia hacia el año 1750 a.C. (Nayar y Mehra, 1975). Durante los viajes de Marco Polo alrededor del año 1298, también hubo algunas evidencias de la existencia del ajonjolí, ya que él mismo tuvo la oportunidad de observar a los Persas utilizar el aceite de ajonjolí como aceite comestible, en unturas para el cuerpo, en medicina, iluminación, cosmetología y en lubricación de maquinaria primitiva (Johnson et al., 1979).

A este cultivo se le ha dado el nombre de "el rey de los cultivos oleaginosos", debido al alto rendimiento (57 %) y calidad del aceite, así como a los beneficios de la semilla misma y de la harina que se extrae de ella (Lyon, 1972).

2. Estructura macroscópica.

La semilla de ajonjolí es pequeña, con forma de pera y tiene de longitud entre 2.5 y 3.0 mm, con 1.5 mm de ancho aproximadamente. Mil de estas semillas llegan a pesar entre 2 y 4 g, y

son de color oscuro, café o blanco, con superficie uniforme o ligeramente jaspeada. Mediante una sección transversal de la semilla, se localizan acanalamientos en la testa, una porción de endosperma a continuación, y en seguida la sección embrionaria con prominentes cotiledones (Figura 1).

Testa. La epidermis externa consiste en una capa sencilla de células que tiene un diámetro transversal entre 30 y 40 μ con paredes unidas radialmente. Estas células están alejadas de las que se encuentran en los canales de la testa y contienen cristales de oxalato de calcio encapsulados, los cuales en ocasiones se desintegran en el mismo sitio.

El resto de la testa o cascarilla, consiste de dos capas delgadas con algunas células aplanadas que contienen pequeños cristales de oxalato de calcio. Existe también una "membrana amarilla" con un grosor aproximado de 10 μ , la cual es probablemente una cutícula que une a la testa con el endosperma.

Endosperma. Según la posición, el endosperma consiste de dos a cinco capas de células en su grosor. Las células del parénquima están compuestas por pequeñas gotas de aceite y granos de aleurona sin inclusiones visibles.

Embrión. En la epidermis interna existe una capa simple de células limitadas sobre la superficie interna del cotiledón. El resto del cotiledón consiste de células isodiamétricas, las cuales contienen gotas de aceite y granos de aleurona con inclusiones (Vaughan, 1970).

3. Factores agronómicos y ambientales.

El cultivo de ajonjolí crece bien sobre una variedad de suelos, siendo más próspero en aquéllos que son moderadamente fértiles y con disponibilidad de desagüe.

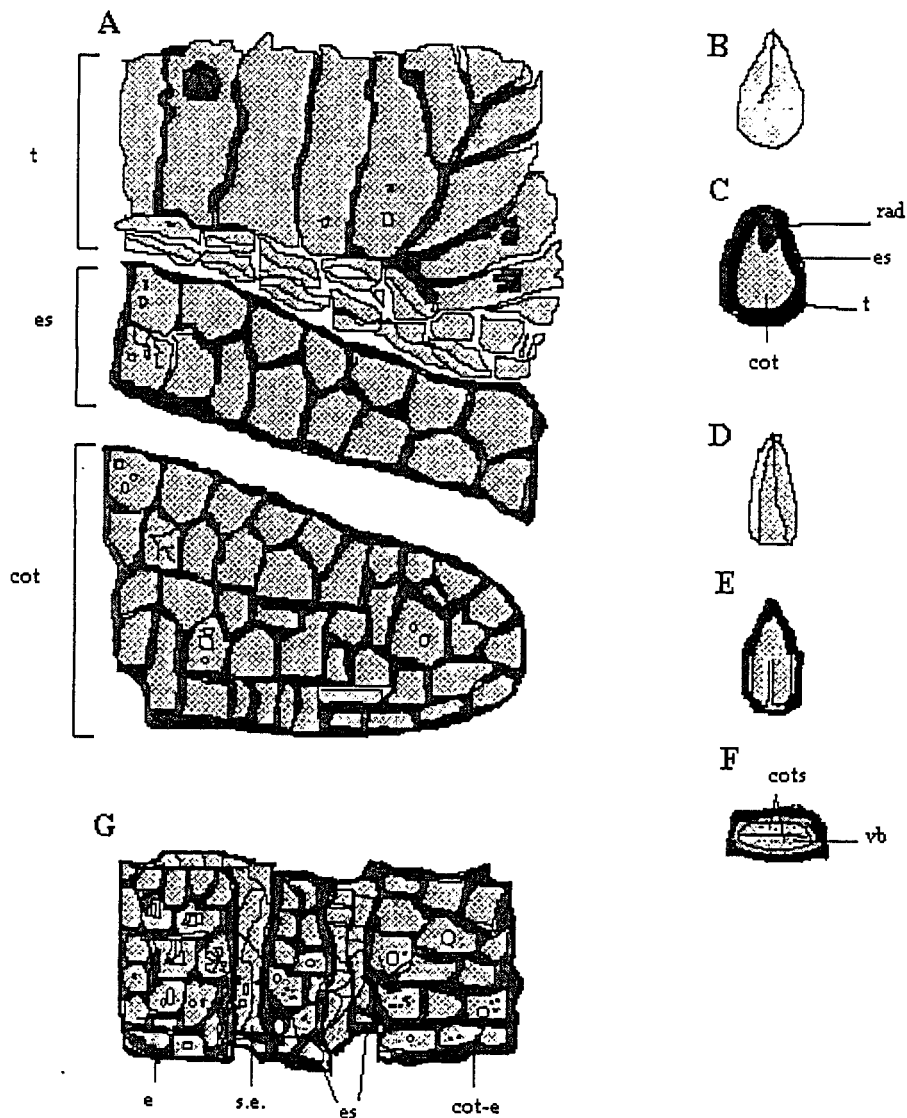


Figura 1. Estructura macroscópica del ajonjolí. A: testa (t), endosperma (es) y cotiledón (cot); B-F: vistas de la semilla; G: epidermis de la testa con cristales (e), células de la testa con oxalato de calcio (s.e.), endosperma (es) y epidermis del cotiledón (cot-e). (Vaughan, 1970).

Al parecer la estructura y la composición de los suelos son de importancia secundaria comparadas con la capacidad de retención de agua, de esta manera la planta es extremadamente susceptible a períodos cortos de inundación en cualquier etapa de su desarrollo.

La impermeabilidad de los suelos bajos no es adecuada para el cultivo, ni tampoco la salinidad que en algunos es característica. El ajonjolí es extremadamente susceptible a la salinidad, y en concentraciones de sales que tienen poco efecto sobre cultivos como el algodón, éstas son drásticas para el cultivo del ajonjolí (Yuosif et al., 1972). Es preferible la neutralidad de los suelos y aunque se han obtenido buenos resultados en tierras ligeramente ácidas o alcalinas, el ajonjolí no es muy próspero en este tipo de suelos (Weiss, 1983).

Por otra parte, las prácticas del cultivo se llevan a cabo en áreas pequeñas y con métodos y herramientas sencillas; la producción comercial es relativamente reciente y los mayores problemas que se tienen son la madurez irregular de las vainas y la caída de la semilla antes de la cosecha, por lo que se dificulta la recolección mecánica. Este es un factor que le resta importancia al cultivo en comparación a otras semillas, pero la introducción de otras variedades mejoradas, puede solventar el problema.

El efecto de la variedad sobre el tipo de semilla y el rendimiento, tiene una variación con la localidad en que se siembre, por tal motivo cuando se planean cultivos a gran escala, es importante llevar a cabo pruebas para determinar las interacciones entre esos factores. Las condiciones de germinación marcan temperaturas altas siendo tolerables hasta los 32 °C, mientras que por debajo de los 10 °C, este proceso se inhibe. La aplicación de fertilizantes sobre suelos de fertilidad baja a moderada, incrementa la tasa de crecimiento y en general el vigor de los brotes (Weiss, 1983).

Los mayores rendimientos de ajonjolí se obtienen bajo ciertas condiciones de irrigación en zonas áridas donde el clima es seco y los rayos solares son indispensables; además la humedad reducida de esas áreas, desfavorece la proliferación de ciertos hongos.

El ajonjolí se considera básicamente de regiones tropicales y subtropicales, pero su extensión en zonas templadas se podría realizar si se cuenta con variedades mejoradas. El efecto de la variación de los fotoperíodos sobre el crecimiento y la floración se ha estudiado ampliamente por ser otro de los factores que más afecta al rendimiento (Weiss, 1983).

La resistencia a la sequía es una de las principales ventajas que presenta el ajonjolí, ya que su cultivo se puede planear en zonas áridas obteniéndose buena calidad de la semilla. Sin embargo, el granizo y los fuertes vientos afectan el cultivo ocasionando cuantiosas pérdidas (Weiss, 1983).

4. Cosecha y almacenamiento.

Los cultivos de ajonjolí se encuentran listos para la cosecha normalmente durante los 80 y 150 días después de la siembra. En la madurez, las hojas y los tallos cambian de verde a amarillo tornándose a rojizas. Es esencial que los tallos se corten antes de que las vainas maduren evitando pérdidas de la semilla en el campo y posteriormente, según las prácticas de algunos países, se forman apiladeros en el campo para que la planta alcance su madurez y se pueda llevar a cabo el desgranado en forma manual. En otros casos, la introducción de variedades más resistentes al quebrado puede permitir el empleo de maquinaria durante la cosecha.

El rendimiento de la semilla fluctúa entre pocos cientos hasta los 3000 kg/ha dependiendo del sistema de labranza practicado. Una vez realizada la cosecha, las labores de

almacenamiento atraen pocos problemas si la semilla se encuentra en condiciones de limpieza y humedad; sin embargo, cuando alcanza elevadas temperaturas o se contamina con otros materiales, el aceite pierde sus características de calidad (Weiss, 1983).

Los métodos de almacenado varían y los principales inconvenientes que se presentan son el ataque por algunos insectos y animales domésticos. El almacenamiento de la semilla en buen estado se obtiene con un 50 % de humedad relativa y 18 °C, estas condiciones evitan el germinado en los primeros 12 meses de almacenado (Weiss, 1983).

5. Producción.

Durante 1971 la producción mundial de ajonjolí fue alrededor de 1.5×10^6 tons, siendo los principales países productores: China, Taiwan, India y México, así como algunas regiones de África y América Latina (Smith, 1971a). Durante ese tiempo la mayor parte de la semilla se consumía en el país que se producía, ya que menos del 5 % de la producción mundial se destinaba al comercio de exportación (Lyon, 1972).

En 1976 la producción a nivel mundial se elevó a 1.9×10^6 tons en una superficie de 6.4×10^6 has, con un rendimiento de 307 kg/ha (Tabla 1). En ese mismo año, la India dedicó la mayor superficie para el cultivo de ajonjolí obteniendo rendimientos bastante bajos; sin embargo, fue el país que aportó el 21.4 % de la producción mundial, seguido por China y Sudán, siendo éste último el mayor exportador (El Tinay et al., 1976).

Principalmente el ajonjolí crece en las regiones menos desarrolladas de Asia, el Mediterráneo y América del Sur. Entre esos años la producción mundial se estimó en 2×10^6 tons anualmente, colocando al ajonjolí dentro del grupo de las oleaginosas con mayor producción (FAO, 1977; U.N., 1974).

Tabla 1. Superficie, rendimiento y producción de ajonjolí en el mundo en 1976 y 1991.

País	Superficie (1,000 has)	Rendimiento (kg/ha)	Producción (1,000 tons)	Producción (%)
India	2,300	183	420	21.4
	2,611	306	800	33.1
China	902	426	384	19.6
	751	667	500	20.6
Sudán	798	332	265	13.5
	538	180	97	4.0
Birmania	741	186	137	7.0
	-	-	-	-
México	240	450	108	5.5
	90	532	48	2.0
Nigeria	230	304	70	3.6
	250	280	70	2.9
Etiopía	160	438	70	3.6
	62	581	36	1.5
Venezuela	140	443	62	3.2
	80	500	40	1.7
Uganda	130	320	42	2.1
	125	504	63	2.6
Afganistán	43	930	40	2.0
	46	522	24	1.0
Continente				
Asia	4,316	274	1,182	60.2
	4,896	366	1,791	73.9
África	1,607	342	549	28.0
	1,370	338	463	19.1
América del Sur	182	486	89	4.5
	110	532	58	2.4
América Central	269	512	137	7.0
	-	-	-	-
América del Norte	1	706	1	0.1
	-	-	-	-
Europa	9	407	4	0.2
	1	818	1	0.04
Mundial	6,384	307	1,962	
	6,590	368	2,424	

(FAO, 1977; 1991).

Para 1991 la producción mundial ascendió a casi 2.5×10^6 tons, y en la misma Tabla se muestra la aportación de cada país, así como su variación con respecto a 1976.

En México, la producción de ajonjolí se concentra en los estados de Sonora, Guerrero, Michoacán, Baja California, Oaxaca, Sinaloa, Veracruz y Jalisco. En la Tabla 2 se muestra la producción de ajonjolí que se tiene en el país a partir de 1983 y hasta 1991, la cual se ha reducido debido a la disminución de superficies que se destinan a este cultivo, probablemente debido a la falta de atención para incorporarlo en la dieta mexicana o porque con la producción actual se abastecen las necesidades de consumo del país.

En los años de 1992 y 1993 el total de siembra de ajonjolí a nivel nacional fue de 996 y 539 tons respectivamente, existiendo una variación del 45.9 %, mientras que el total de cosecha fue de 37,148 y 20,987 tons con una variación del 43.5 % (INEGI, 1993).

6. Utilización.

El ajonjolí descascarillado por ser una semilla pequeña, de sabor poco dulce y oleaginosa, tiene un uso directo en los alimentos de varios países Orientales (Arthur y Volkert, 1950). Es ingrediente en sopas, carnes y en combinación con cacahuete se prepara una pasta que se conoce con el nombre de tachini (tahena). Otro dulce llamado halvah (halwa) que es característico de Grecia, se hace a base de tachini, azúcar, albúmina de huevo, gelatina y jugo de raíz de Panamá (Riedel, 1975).

Además de que forma parte de la confitería de varios países, el ajonjolí se incluye en botanas consideradas como nutritivas (Mekongsee y Swatditat, 1974). Sin embargo, el mayor uso que tiene la semilla de ajonjolí es la obtención de su aceite de remarcable calidad (Johnson et al., 1979).

Tabla 2. Producción de ajonjolí en México.

Año	Superficie cosechada (has)	Producción (tons)	Rendimiento (ton/ha)
1983	164,461	86,769	0.528
1985	142,031	71,607	0.525
1986	100,000	56,000	0.560
1987	85,000	48,000	0.565
1988	136,000	59,000	0.434
1990 +	110,432	59,864	0.542
1991 +	72,104	37,000	0.513

Fuente: Anuario estadístico de los Estados Unidos Mexicanos (1987, 89).

Agenda estadística INEGI (1990).

+ Dirección general de estadística, S.A.R.H. (1991, 92).

B. El Interés de los Compuestos Químicos del Ajonjolí.

1. Aceite.

La cantidad de aceite que posee la semilla de ajonjolí varía entre 45 y 63 % dependiendo de la variedad. Las propiedades de este componente se enlistan a continuación (Tabla 3) y son las reportadas en los métodos oficiales de la AOCS (American Oil Chemists' Society) (Lyon, 1972).

Los ácidos grasos que prevalecen en el aceite de ajonjolí son el ácido oleico y linoleico (40%), el contenido de ácido palmítico es de un 7 a 12 % y existe menos del 1 % de ácido linolénico (Lyon, 1972). Muchas de las propiedades especiales del aceite se deben a la presencia de sesamina en cantidades de 0.4 a 1.1 %, 0.3-0.6 % de sesamolina y trazas de sesamol (Beroza y Kinman, 1955). Estos compuestos son antioxidantes efectivos que mantienen la calidad del aceite y de algunas grasas (Moore y Bickford, 1952). Durante la segunda guerra mundial se descubrió el poder sinérgico del aceite de ajonjolí con los piretroides y algunos otros insecticidas (Eagleson, 1970).

Otras características de este aceite son los pigmentos que contiene, los cuales se han detectado en longitudes de onda máxima de 665 y 670 nm y se denominan feofitín A y feofitín B (Daghetta et al., 1967). Por otra parte, los compuestos aromáticos son fracciones fenólicas y carbonílicas, la mayoría de ellas aldeídos de 5 y 9 carbonos o cetonas derivadas de furanos y pirroles (Yamanishi et al., 1968).

Debido a sus propiedades, el aceite se utiliza como aceite de cocina, en la elaboración de margarinas y mantequillas, como base lipídica para jabones, en farmacéutica y en insecticidas (Johnson et al., 1979).

Tabla 3. Propiedades del aceite de ajonjolí.

Propiedad	Valor
Gravedad específica 25/25 °C	0.918-0.926
Indice de yodo	104-118
Indice de refracción 25 °C	1.472-1.474
Indice de saponificación	187-193
Materia insaponificable (%)	< 1.8
Acidos grasos saturados (%)	12-15
Acidos grasos insaturados (%)	80-87
Título (°C)	20-25

(Lyon,1972).

2. Proteína.

El contenido de proteína en la semilla de ajonjolí integral oscila entre un 17 y 32 % dependiendo de la variedad, una vez que la semilla es desengrasada, la harina resultante contiene alrededor del 60 % de proteína que puede ser muy bien aprovechada por sus propiedades nutricionales (Lyon, 1972).

2.1 Caracterización.

A partir del gran número de trabajos que se han realizado para determinar la separación química de varias proteínas y sus propiedades, se ha llevado a cabo la caracterización de la proteína de ajonjolí, con la que se ha establecido que existen tres proteínas solubles en esta oleaginosa (Jones y Gersdorff, 1927).

Estudios posteriores mostraron que la proteína de ajonjolí indudablemente consiste de cuatro proteínas: dos de ellas se designaron como α -globulina y β -globulina, mientras que las otras fueron fracción # 1 y fracción # 4 (Salem y Bekheit, 1964). Para el propósito de caracterización se han utilizado técnicas como la ultracentrifugación, con la que se han determinado también cuatro fracciones proteínicas con valores 2S, 7S, 13S y 19S.

La mayor fracción es la α -globulina que representa alrededor del 70 % del total de las proteínas en la semilla de ajonjolí y contiene las subunidades 13S y 19S (Sinha y Sen, 1962).

Prakash y Nandi (1978) estimaron el peso molecular de la α -globulina en $250,000 \pm 15,000$, mediante métodos de sedimentación. Esta proteína se ha caracterizado por tener un punto isoeléctrico de 4.9 y un contenido de nitrógeno de 15.9 %, consistiendo de 12 diferentes subunidades con pesos moleculares entre 8,000 y 85,000 daltones, las cuales se asocian predominantemente por interacciones hidrofóbicas (Johnson et al., 1979).

Otra técnica bastante empleada para este propósito es la electroforesis en gel de acrilamida, mediante la cual se han detectado varias fracciones proteínicas que contienen pesos moleculares entre 17,900 y 51,000 daltones (Guerra y Park, 1975). Asimismo se detectaron cuatro bandas en extractos proteínicos de ajonjolí obtenidos a pH 7, que al compararse con los patrones de referencia, presentaron pesos moleculares de 19,800, 30,600, 35,500 y 53,700 daltones (Cano-Medina, 1992).

La discrepancia que resulta entre varios autores al caracterizar las proteínas de ajonjolí, es probablemente debido a las diferentes variedades que se analizan y que por razones genéticas no coinciden con las mismas características (Okubo et al., 1979).

2.2 Aporte de aminoácidos.

La composición de aminoácidos en la proteína de ajonjolí es de interés sustancial debido a que incluye una cantidad adecuada de aminoácidos esenciales (excepto lisina), siendo además una fuente importante de metionina (Lyon, 1972). Los rangos de valores a partir de cinco variedades de ajonjolí provenientes de Estados Unidos, México y Brasil, indicaron un contenido particularmente alto de metionina entre 2.5-4.0 % y de aminoácidos azufrados entre 3.8-5.5 % (Tabla 4), (Evans y Bandemer, 1967). La lisina sin embargo, se encuentra en cantidades pequeñas en la proteína según la referencia de la FAO (Food and Agriculture Organization), y además se considera por varios autores como un aminoácido que limita la calidad nutricional de la proteína de ajonjolí (Johnson et al., 1979).

No obstante, la importancia que tiene el uso de proteínas ricas en metionina como suplemento en alimentos, es la adecuada liberación de aminoácidos en el tracto digestivo humano, en contraste con el suministro de metionina libre (Clark y Woodward, 1966).

Tabla 4. Contenido de aminoácidos esenciales en cinco variedades de ajonjolí.

Aminoácido	g/g 16 N	(FAO) g/16g N
Arginina	12.0 - 13.0	2.0
Histidina	2.4 - 2.8	2.4
Isoleucina	3.3 - 3.6	4.2
Leucina	6.5 - 7.0	4.8
Lisina	2.5 - 3.0	4.2
Metionina	2.5 - 4.0	2.2
Metionina - Cistina	3.8 - 5.5	4.2
Fenilalanina	4.2 - 4.5	2.8
Treonina	3.4 - 3.8	2.6
Triptófano	2.0 - 2.4	1.4
Valina	4.2 - 4.4	4.2

(Evans y Bandemer, 1967).

2.3 Digestibilidad.

Los principales inconvenientes que existen para emplear materiales de origen vegetal como fuentes de proteína en el consumo humano, son su bajo valor biológico y las dificultades inherentes de procesamiento que están involucradas en la separación de la proteína a partir del material fibroso.

Otro parámetro importante de evaluar para la aceptabilidad de una proteína para el consumo humano, es el coeficiente de digestibilidad mediante el cual se especifica la disponibilidad de ésta para ser digerible y por consiguiente asimilable.

La proteína de ajonjolí se ha analizado mediante métodos enzimáticos con pepsina y pancreatina, detectándose valores del coeficiente de digestibilidad que van desde 87 hasta 93 % en varias muestras. Estos valores están expresados como la cantidad de nitrógeno soluble referido a la cantidad total de nitrógeno (Villegas et al., 1968).

Otros resultados de índice de digestibilidad aparente de las proteínas de ajonjolí que se obtuvieron al suplementar las dietas suministradas a ratas con otras harinas, fueron valores entre 62 y 95 % dependiendo de la muestra aplicada (Guerra et al., 1984).

2.4 Relación de eficiencia proteínica (PER).

Para determinar la calidad de una proteína además de las pruebas de digestibilidad y de valor biológico que se llevan a cabo, también se cuenta con otro ensayo en el que se establece la ganancia de peso que los animales presentan al ser alimentados con el material a analizar, en este caso, proteína de ajonjolí.

El análisis de la proteína de ajonjolí mediante este ensayo ha dado una valiosa información para catalogar a este componente como de alta calidad, ya que en estudios

realizados con ratas alimentadas con el 10 % de proteína de ajonjolí y fortificación del 4.2 % de lisina durante 4 semanas, se alcanzaron relaciones de eficiencia proteínica de 1.7 a 2.14. Asimismo al aumentar la cantidad de lisina a un nivel de 8.2 % (nivel en la caseína) se alcanzó un valor de eficiencia proteínica de 2.91, mientras que para la caseína este valor es de 2.5 aproximadamente (Joseph et al., 1962).

2.5 Evaluación en nutrición humana.

La evaluación de la proteína en humanos ha sido verdaderamente limitada por razones de ética moral y humanitaria; sin embargo, en algunas pruebas que se han hecho para suministrar alimentos a individuos a base de una mezcla de proteínas de ajonjolí con otras oleaginosas que no son deficientes en lisina, se encontró que las dietas fueron tan efectivas como la leche descremada para controlar manifestaciones clínicas y algunos problemas de desnutrición, no siendo así para la regeneración de albúmina sérica (Lyon, 1972).

Por otra parte el Instituto de Nutrición de América Central y Panamá (INCAP) ha desarrollado mezclas de proteínas de origen vegetal para consumo humano conteniendo 35 % de harina de ajonjolí. Estas mezclas fueron realmente aceptables como fuente principal de proteína por las poblaciones necesitadas debido a su bajo costo (Lyon, 1972).

Estos y otros ensayos tratados por varios autores demuestran que es posible producir a partir de tortas de ajonjolí provenientes del proceso de extracción por solventes, una harina con características que justifiquen ensayos posteriores en niños, para estudiar su valor potencial como ingrediente alimenticio o suplementario (Jaffé y Chávez, 1971).

2.6 Funcionalidad.

El fenómeno de asociación-disociación de la proteína de ajonjolí bajo diferentes condiciones, contribuye al mejor entendimiento de la naturaleza de la proteína para así obtener mejores formulaciones en prácticas de suplementación (Prakash y Nandi, 1977).

La solubilidad de la proteína es limitada en comparación a otras oleaginosas, pero los métodos de hidrólisis enzimática pueden ser útiles para aumentar esta propiedad (Lawhorn et al., 1972). Sin embargo, la naturaleza insoluble de la proteína de ajonjolí permite obtener productos de panificación con buena calidad. Generalmente, estas proteínas suelen funcionar mejor en la suplementación del pan que las proteínas solubles (Johnson et al., 1979).

Rooney et al. (1972) demostraron que la harina de trigo es más compatible con la harina de ajonjolí que con otras oleaginosas, ya que ésta le aporta buen volumen y una aceptable textura al pan que se elabora. Lo anterior resalta el hecho de que además de poseer propiedades nutritivas que se pueden aprovechar, es factible el uso de la proteína de ajonjolí en otros alimentos procesados.

Como se ha visto, la solubilidad es una propiedad crítica funcional de los ingredientes proteínicos y en bebidas, es un requisito que estos aditivos sean completamente solubles y tengan un gran poder de dispersión. Además de esto, muchas otras propiedades dependen de la capacidad de la proteína para presentarse en solución, por ejemplo, la gelificación, emulsificación y espumado (Saeed y Cheryan, 1988).

La mayoría de estas propiedades se practican en los alimentos que consumimos, pero el éxito para obtenerlas requiere del conocimiento de las interacciones de la proteína con los demás componentes en dispersión y de las propiedades fisicoquímicas particulares del producto final para controlar los factores de alteración en la estabilidad del mismo.

3. Carbohidratos.

La semilla de ajonjolí integral se caracteriza por un contenido aproximado del 14 % de carbohidratos, entre los que se encuentran los siguientes valores en base seca (Tabla 5) (Wankhede y Tharanathan, 1976).

4. Vitaminas y minerales.

La composición química del ajonjolí es de importancia debido a los macronutrientes que contiene; sin embargo, existe también otro grupo de compuestos químicos que son de interés nutricional, pero que se encuentran en pequeñas cantidades. Estos compuestos son moléculas que participan en varias de las reacciones que se desarrollan en el organismo y que su carencia provoca algunos malestares o enfermedades, y de ahí su importancia en la ingesta diaria. Dichos compuestos son las vitaminas y minerales que se encuentran en la mayoría de los alimentos, particularmente en frutas y hortalizas. La porción de estos elementos varía dependiendo de la clase del fruto u hortaliza de que se trate y de las condiciones ambientales en que se cultive (Badui-Dergal, 1987).

En la semilla de ajonjolí existe una cantidad considerable de vitaminas y minerales, resaltando la presencia de tiamina, riboflavina, ácido nicotínico y calcio (Tabekhia y Mohamed, 1971). Kik (1960) reportó los resultados de la composición de vitaminas, minerales y otros constituyentes en la semilla de ajonjolí (Tabla 6).

4.1 Biodisponibilidad del calcio.

El papel exacto del calcio en la patofisiología y prevención de la osteoporosis, ha sido objeto de debates por carecer de pruebas confirmativas. Sin embargo, existen muchas evidencias

Tabla 5. Lista de carbohidratos presentes en la semilla de ajonjolí.

Carbohidrato	(%)
D-glucosa	3.24
D-frutosa	2.63
D-galactosa	0.06
sacarosa	0.17
rafinosa	0.24
estaquirosa	0.23
planteosa	0.59
sesamosa	0.38
pentasacáridos	0.16
hexasacáridos	0.08

(Wankhede y Tharanathan, 1976).

Tabla 6. Composición nutricional complementaria de la semilla de ajonjolí.

Constituyente	$\mu\text{g/g}^a$
Tiamina	2.40
Riboflavina	2.50
Acido nicotínico	80.00
Acido pantoténico	
Total	9.50
Libre	3.40
Biotina	0.06
Acido fólico	
Total	0.20
Libre	0.10
Piridoxina	2.33
Inositol	740.00
Colina	1320.00
Acido p - aminobenzóico	0.65
	(%)
Calcio	1.6500
Fósforo	1.6000
Hierro	0.0044

(Kik, 1960).

^a $\mu\text{g/g}$: microgramos por gramo de semilla.

que sugieren que una ingesta baja en calcio, es uno de los factores de riesgo que se asocian con el desarrollo del daño (Albanese et al., 1986). La relación posible entre el calcio ingerido y la presión sanguínea es también un tópico de mucha controversia (Poneros-Schneier y Ermand, 1989).

La biodisponibilidad del calcio a partir de los alimentos es de gran importancia debido a que se ha estimado que el 75 % de las mujeres y el 60 % de los hombres, consumen menos de la recomendación diaria permitida que es de 800 mg por día (Carroll et al., 1983).

Los alimentos como la semilla de ajonjolí, almendras y pan integral, contienen cantidades significativas de calcio pero se conoce relativamente poco a cerca de la biodisponibilidad de este elemento a partir de esos alimentos (Poneros-Schneier y Ermand, 1989). Por tal motivo, estos autores estimaron la biodisponibilidad del calcio determinando la cantidad retenida en los huesos de ratas experimentales. El valor de biodisponibilidad que se obtuvo fue de 65 %, lo cual colocó al ajonjolí en el grupo intermedio de otros alimentos que también se analizaron como la espinaca, las almendras y el pan integral. La espinaca tuvo un valor de 47 % y el pan integral del 95 %, esto se explica debido a que el calcio en la espinaca se inhibe por la presencia de ácido oxálico formando un complejo que evita la absorción del calcio en el intestino (Poneros-Schneier y Ermand, 1989).

El fenómeno anterior podría estar relacionado también a una baja biodisponibilidad del calcio contenido en la semilla de ajonjolí, ya que el porcentaje de ácido oxálico en la cascarilla es de 2 a 3 % (Johnson et al., 1979). Considerando que el oxalato se encuentra principalmente en la cascarilla, el proceso de descascarillado resulta útil para disminuir este componente y mejorar así las características de sabor, color y calidad nutricional de la harina desengrasada (Johnson et al., 1979).

4.2 Importancia del selenio.

El selenio es un elemento que normalmente se encuentra en cantidades traza y que forma parte de la enzima antioxidante glutatión peroxidasa. Este elemento ayuda a prevenir la oxidación de ácidos grasos poliinsaturados y se puede encontrar además en otras proteínas que sirven de transporte o almacenamiento del mismo (Whitney, 1990). A partir de esta idea se requiere al selenio como un micronutriente en la dieta de los animales superiores. Por otro lado, se ha considerado por algunos investigadores como factor anticancerígeno (Schrauzer et al., 1977).

En otros estudios más se determinó que este elemento disminuye la incidencia de algunos tumores en animales (Marshall et al., 1979) y disminuye la mutagenicidad del 2-acetilaminofluoreno, del dimetil benzatraceno, del color naranja acridina y del nitrato de sodio (Adams et al., 1980).

La importancia del selenio en la dieta diaria ha aumentado a raíz de hallazgos como estos y en otros donde la deficiencia de este elemento puede causar predisposición a daños del corazón (Whitney, 1990). El interés por detallar los efectos que causan elementos como éste, estriba en que algunas de las plantas tienden a almacenar cantidades considerables en su estructura cuando se cultivan en suelos que son propios de contener dicho elemento. Para el caso del ajonjolí, se ha visto que cuando es cultivado en tierras altamente seleníferas tiende a presentar esta característica (Moxon y Dakota, 1937).

5. Factores antinutricionales.

Por razones que aún no se esclarecen completamente, muchos de los vegetales tienen la capacidad de sintetizar una amplia variedad de compuestos químicos que son conocidos por

causar efectos dañinos cuando se ingieren por animales superiores. Algunas leguminosas como el frijol de soya se caracterizan por contener estos compuestos tales como inhibidores de tripsina, hemaglutininas y saponinas; otros como el algodón, presentan un contenido elevado de gossipol (Smith, 1971b).

En el ajonjolí se ha descartado la presencia de algunos de estos compuestos mediante técnicas enzimáticas y biológicas; sin embargo, existe la presencia de otros compuestos como el ácido oxálico que disminuye la disponibilidad del calcio, y el selenio que en altas concentraciones puede ser tóxico (Jaffé et al., 1964).

5.1 Acido oxálico.

Una característica excepcional del ajonjolí es que contiene del 2 a 3 % de ácido oxálico y de 1 a 2 % de calcio en la cascarilla. Las variedades de color más oscuro son las que presentan niveles más altos de ácido oxálico y fibra, lo cual induce la disminución de proteína (Johnson y Raymond, 1964).

La presencia simultánea de grandes cantidades de ácido oxálico y calcio hace que se forme un complejo insoluble, asumiéndose que de una mitad a dos terceras partes del calcio, se encuentra en forma de sal (Dey, 1951). El calcio unido a la sal pierde su biodisponibilidad, siendo éste un fenómeno de gran importancia para la alimentación del ser humano y sobre todo de infantes. Es por esto que las técnicas de descascarillado juegan un papel muy importante, ya que se alcanzan contenidos de menos del 0.25 % de ácido oxálico mediante los procedimientos adecuados (Johnson et al., 1979).

Numerosos métodos se han desarrollado para cumplir con este objetivo. Uno de ellos consiste en sumergir las semillas en solución diluída ya sea de hidróxido de sodio,

borato de sodio o hipoclorito de sodio y con aplicación de calor, en las que la cascarilla se elimina por desintegración. El más recomendado para este propósito, es el descuticulado en forma mecánica dado que no involucra sustancias químicas (Surendranath et al., 1971).

5.2 Acido fítico.

El material desengrasado que resulta de la extracción del aceite de ajonjolí contiene alrededor del 5 % de ácido fítico comparado con la harina de soya que alcanza un 1.5 % (De Boland et al., 1975). Los fitatos actúan reduciendo la biodisponibilidad del zinc, calcio, magnesio y tal vez la del hierro, así como también disminuyen la solubilidad de algunas proteínas (Smith y Rackis, 1957).

Existen evidencias de que los complejos que se forman con la unión de proteínas, son menos susceptibles al ataque de enzimas proteolíticas (O'Dell y De Boland, 1976), por lo que éste vendría a ser un grave problema para la utilización del ajonjolí como fuente de proteína. Aparentemente el fitato no se encuentra fuertemente unido a la proteína en la harina de ajonjolí, sino que existe en forma de complejo con magnesio y en soluciones neutras no se logra extraer.

Debido a que el 90 % de los fitatos en la harina desengrasada es insoluble en agua y en soluciones alcalinas, los procesos de extracción acuosos de los aislados proteínicos, pueden ser un método eficaz para reducir este factor antinutritivo (Johnson et al., 1979).

5.3 Selenio.

El selenio en cantidades traza puede ser indispensable como micronutriente en la ingesta diaria, pero en proporciones elevadas (6 - 40 ppm) se convierte en un factor de riesgo para la

salud, dando origen a síntomas como: un crecimiento bastante deficiente, valores muy bajos de hemoglobina y hematocrito y un tiempo prolongado de protrombina. Síntomas como estos se observaron en ratas cuando se alimentaron con ajonjolí adicionado con selenito de sodio (Jaffé et al., 1964).

Moxon y Dakota (1937) establecieron que los suelos que ofrecen un contenido de selenio de apenas 0.5 ppm deben conceptuarse como potencialmente peligrosos, ya que es en esas regiones donde el cultivo de ajonjolí adquiere esta característica.

La unión que existe entre el selenio y algunas proteínas, probablemente se deba a la composición de aminoácidos que éstas poseen y a la afinidad del selenio por aquéllos. Estudios realizados con proteínas ricas en azufre, demostraron que el selenio se incorpora de manera covalente a la molécula proteínica y establecieron que su mayor afinidad es hacia la metionina (Sathe et al., 1992). La característica del ajonjolí de contener selenio en su estructura, es tal vez por la misma razón, ya que la cantidad de metionina en la semilla es significativa. No obstante, se considera el hecho de que en el país las zonas seleníferas son muy escasas.

5.4 Fibra cruda.

El material fibroso del ajonjolí se encuentra principalmente en la cascarilla, la cual representa del 15 al 20 % de la semilla integral (Shamanthaka Sastry et al., 1969).

Como se sabe, el exceso de fibra en la alimentación puede originar en ocasiones trastornos intestinales, limitando además la absorción de micronutrientes en el organismo. Por tal motivo, una de las limitantes que se tiene en el consumo de harina desengrasada de ajonjolí, es la presencia de cascarilla y su alto contenido en fibra. Debido a esto, los métodos

de descascarillado son de interés ya que mejoran su digestibilidad enzimática y como consecuencia, su calidad nutricional (Shamanthaka Sastry et al., 1974).

5.5 Inhibidores de tripsina.

En la naturaleza existen algunos compuestos que por su origen, causan trastornos en el organismo caracterizados por una pobre asimilación de proteínas, dando origen a un retraso en el crecimiento o un bajo índice de la eficiencia proteínica; además mediante su acción, pueden ocasionar una hipertrofia pancreática (investigación en ratas). Estos compuestos conocidos como inhibidores de tripsina se encuentran en ciertas leguminosas, y al parecer, son característicos del frijol de soya (Smith, 1971b). La semilla de ajonjolí ha sido objeto de varios estudios en donde por tratamientos de digestibilidad *in vitro* y a través de tratamientos térmicos, se ha demostrado la ausencia de este tipo de compuestos (Rastogi et al., 1962).

En general se ha visto que el ajonjolí tiene factores antinutricionales muy limitados, pero no se descarta la presencia de compuestos como alergénicos y taninos, que le sirven a la planta como una defensa en su etapa de crecimiento y desarrollo. Una ventaja que se obtiene de las etapas de procesamiento en la obtención de harina desengrasada de ajonjolí y otras semillas, es la reducción de compuestos indeseables presentes en el material original.

C. Estudio sobre la Extracción de Proteínas de Ajonjolí.

A lo largo de varios estudios realizados se han ido estableciendo los métodos más eficientes de extracción y purificación para la recuperación de proteínas a partir de la materia prima. Debido a la naturaleza molecular que la proteína de ajonjolí presenta, ésta puede ser extraída

en soluciones acuosas a partir de la harina desengrasada que contenga la menor cantidad de aceite posible (<1%). La recuperación de la harina con esta característica se consigue mediante la extracción del aceite por técnicas de prensado y solventes, que permiten obtener una harina de buena calidad. En la mayoría de los casos, esta etapa es precedida por un descascarillado que le imparte mejor apariencia y valor nutricional (Johnson, 1979).

1. Métodos generales de extracción.

Desde hace tiempo se ha llevado a cabo una serie de estudios con el fin de extraer la proteína de ajonjolí. Ritthausen (1880) realizó la extracción a partir de tortas de ajonjolí bajo condiciones variables de alcalinidad, NaCl y temperatura. Adolph y Lin (1936) determinaron la solubilidad de las proteínas de ajonjolí en soluciones de NaCl, NaOH y Na_2CO_3 . Basu y Gupta (1947) llevaron a cabo estudios similares de solubilidad en medio acuoso a varios pH, en presencia de NaCl y NaHSO_3 . Nath y Giri (1957) hicieron estudios de peptización de la proteína con NaCl en medios ácidos y alcalinos. Posteriormente, Guerra y Park (1975) utilizaron CaCl_2 , Na_2SO_3 y Na_2HPO_4 para la extracción. En 1978 Prakash y Nandi extrajeron la mayor porción de α -globulina en solución de NaCl 1 M.

Todos ellos observaron que concentraciones elevadas de sal incrementan la solubilidad de las proteínas y a partir de este principio, se han hecho varios estudios recientes en los que se comprueba el comportamiento de dichas proteínas en varias soluciones a diferentes valores de pH y concentraciones de sal (Figuras 2 y 3).

En la Figura 2 se muestra que a medida que el pH aumenta por arriba del punto isoeléctrico de la proteína, la extracción del nitrógeno se favorece obteniéndose alrededor del 80 %.

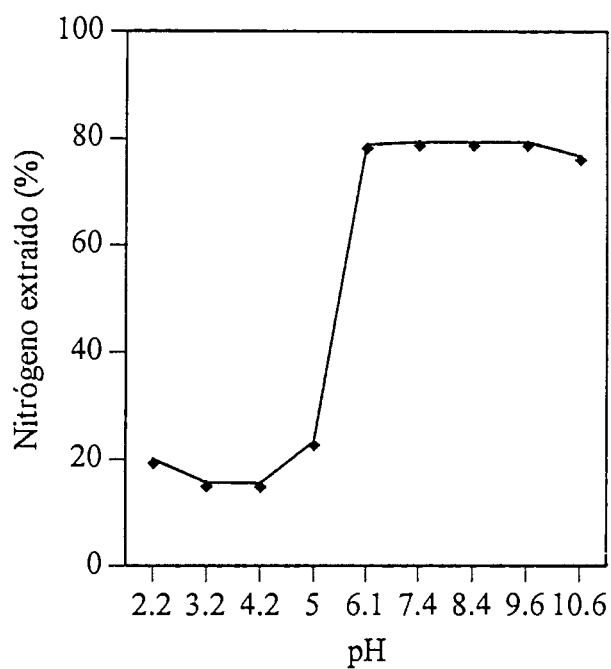


Figura 2. Efecto del pH sobre la extracción de materiales nitrogenados a partir de harina desengrasada de ajonjolí con solución de cloruro de sodio al 10 % (0-5°C) (Okubo et al., 1979).

Este valor se mantiene casi constante en el intervalo de pH de 6 a 10, en solución de NaCl al 10 % y manteniendo bajas temperaturas entre 0 y 5 °C. Asimismo, el perfil de solubilidad de la Figura 3 muestra que la proteína de ajonjolí es insoluble a pH bajo y su solubilidad aumenta al aumentar el pH (8-10).

El perfil de solubilidad de la proteína varía dependiendo de la concentración de las sales que se utilicen; por ejemplo en soluciones de NaCl y CaCl_2 , la solubilidad se incrementa en concentraciones elevadas. En contraste las soluciones diluidas de Na_2SO_3 y Na_2HPO_4 , permiten obtener buenos resultados de extracción. Estas características pueden ser tomadas en cuenta para la extracción de la proteína de ajonjolí y en la obtención de aislados proteínicos (Guerra y Park, 1975).

1.1 Efecto químico de los tratamientos térmicos y alcalinos sobre las proteínas.

El tratamiento de proteínas en medios alcalinos se ha venido incrementado ampliamente debido a la demanda de concentrados y aislados proteínicos, para la obtención de proteínas con características específicas de espumado, emulsión y estabilización; además de utilizarse como método de destoxificación de aflatoxinas (De Groot y Slump, 1969).

En otras investigaciones se determinó que los tratamientos alcalinos en lana, enzimas y albúmina de suero, pueden inducir cambios químicos en la proteína induciendo la formación de nuevos aminoácidos como lisinoalanina, lantionina y ornitinoalanina. Estas modificaciones involucran además otros aminoácidos como cisteína, lisina, arginina y posiblemente serina. Por esta razón, la calidad nutricional de la proteína se puede ver afectada una vez que se somete a tratamientos drásticos de alcalinidad y temperatura.

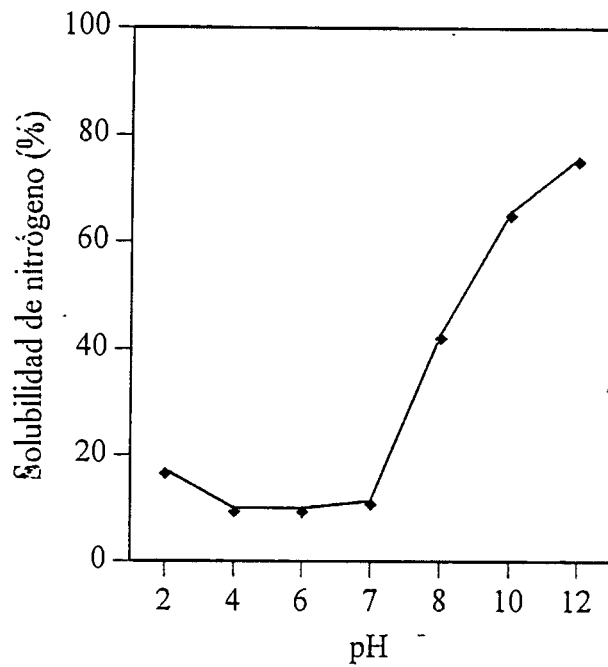


Figura 3. Perfil de solubilidad de la proteína de ajonjolí en soluciones acuosas en función del pH (Guerra y Park, 1975).

En este mismo estudio, se reportó también que no se detectaron cantidades de lisinoalanina a pH 9 en la extracción de proteínas a una temperatura de 90 °C durante 3 h, sin embargo a temperatura ambiente y a pH 12, se detectó una pequeña cantidad de este compuesto, así como la destrucción de cistina (De Groot y Slump, 1969).

Shamanthaka Sastry et al. (1974) reportaron que el descascarillado de la semilla es esencial para elevar su calidad y mostraron que el tratamiento térmico que se involucra durante este proceso, no disminuye el contenido de lisina disponible, ya que este aminoácido contenido en la proteína de ajonjolí, presenta una remarcable estabilidad aún por debajo de condiciones elevadas de temperatura.

2. Optimización del método de extracción de la proteína.

Para obtener un mejor resultado en el proceso de extracción se recurre a diversos métodos de optimización mediante los cuales se recupere el mayor porcentaje de proteína a las condiciones más apropiadas. Durante un estudio realizado por Taha et al. (1987) con diferentes solventes para determinar la solubilidad de la proteína de ajonjolí, se estableció que el NaOH mostró una mayor efectividad en comparación con los demás solventes analizados (Tabla 7).

Por otra parte, los datos de la Tabla 8 muestran las condiciones óptimas para la extracción de las proteínas a partir de la harina de ajonjolí donde se utilizó solución de NaOH 0.04 M a una relación de 100:1 solvente-harina por 60 min, resultando una extracción del 92 % del nitrógeno total de la harina (Taha et al., 1987). En estudios más recientes se determinó que el tiempo, la temperatura y la relación harina-solvente, no fueron factores tan significativos para la extracción de proteínas de ajonjolí como lo fue el pH,

Tabla 7. Solubilidad de la proteína de ajonjolí en soluciones acuosas.

Extractante	Concentración (M)	pH	Proteína soluble (%)
Agua destilada	-	-	12.26
NaCl	0.5	-	49.12
	1.0	-	76.90
NaHCO ₃	0.2	-	44.50
	0.5	-	72.31
Na ₂ CO ₃	0.2	-	86.90
	0.5	-	84.72
Na ₂ CO ₃ y NaHCO ₃	-	10.0	76.89
	-	10.2	77.90
	-	10.4	78.52
	-	10.6	79.61
NaOH	0.02	-	86.41
	0.03	-	87.10
	0.04	-	89.63
	0.05	-	86.00
	0.06	-	85.72
	0.07	-	84.74

(Taha et al., 1987).

Tabla 8. Solubilidad de las proteínas de ajonjolí en soluciones alcalinas (NaOH, 0.04 M).

Solvente : harina	Tiempo de extracción (min)	Proteína soluble (%)
50:1	30	89.0
50:1	60	89.0
50:1	90	89.8
50:1	120	90.1
100:1	30	89.8
100:1	60	91.6
100:1	90	89.8
100:1	120	88.6
200:1	30	90.4
200:1	60	89.0
200:1	90	89.2
200:1	120	89.4

(Taha et al., 1987).

dentro del intervalo analizado a tres niveles mediante una respuesta promedio (Figura 4) (Cano-Medina, 1992).

3. Purificación.

Una vez que se obtiene la harina desengrasada de ajonjolí y se lleva a cabo la extracción de la proteína, es necesario efectuar etapas posteriores para purificar y preservar los aislados proteínicos.

Existen varios métodos de purificación siendo los más citados aquéllos que emplean el punto isoeléctrico para separar la proteína del resto del extracto. En este caso se utilizan etapas de centrifugación y para conservar los aislados, éstos se liofilizan o se secan por aspersion (Murray et al., 1985). Otras técnicas de purificación que se emplean con frecuencia en la identificación de moléculas proteínicas, son las que se basan en los métodos cromatográficos como la electroforesis y cromatografía líquida de alta resolución.

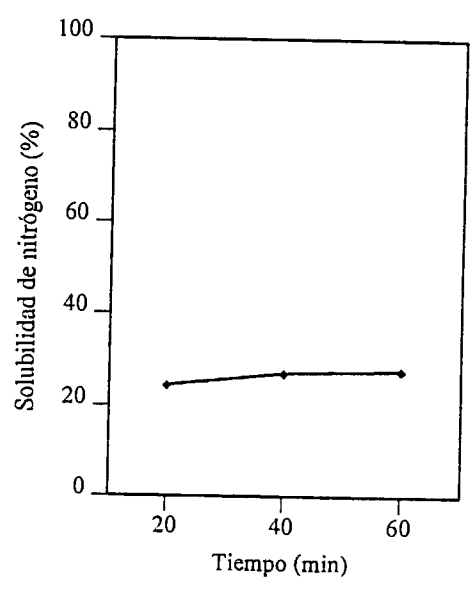
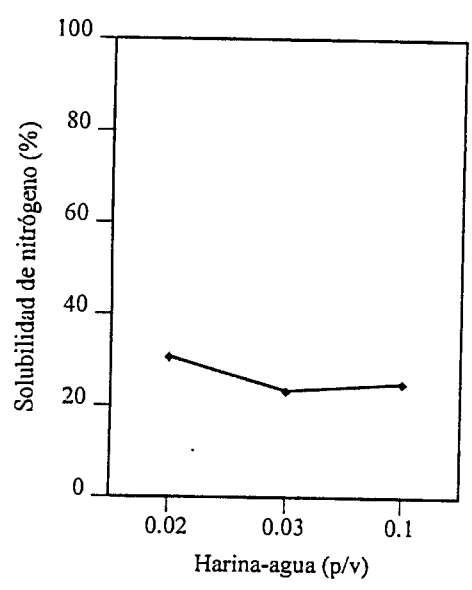
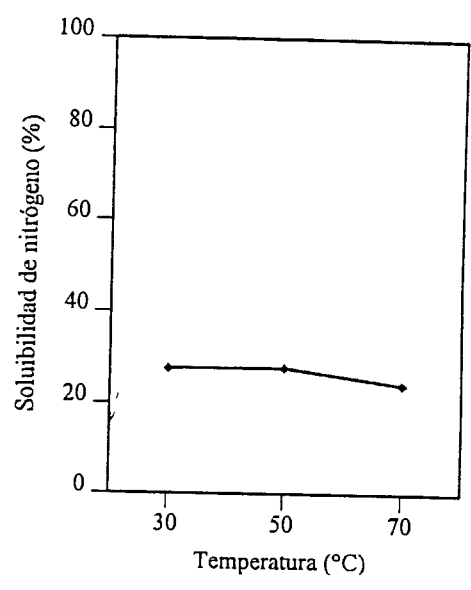
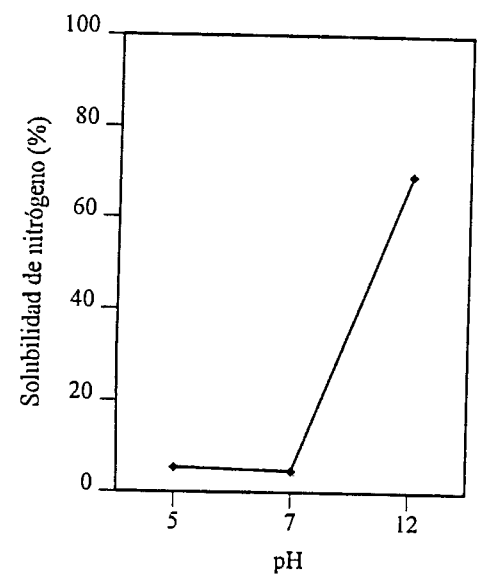


Figura 4. Efecto de algunos factores sobre la extracción de proteínas de ajonjolí (Cano-Medina, 1992).

A. Escasez en el Mundo de Fuentes Alimentarias.

El constante aumento en el problema de desnutrición en el mundo y sobre todo en países que están en vías de desarrollo, es una característica de la producción insuficiente de productos nutritivos que se encuentren al alcance de un mayor número de personas. Esta es una de las cuestiones que más inquieta a los especialistas en problemas alimentarios, quienes plantean la siguiente interrogante: ¿Cuáles serán los alimentos que consumirán los hombres en el futuro?

Para tal caso surgen diversas implicaciones y variantes, pero también existen alternativas de alimentación que se basan en el empleo de recursos de origen vegetal para adquirir los alimentos necesarios y a la vez nutritivos de manera no convencional. Tales recursos incluyen al grupo de cereales, leguminosas, algas, hojas y oleaginosas, que, por considerarse como alternativas de consumo de proteínas, han sido motivo de varias investigaciones.

En el caso del ajonjolí se podría aprovechar la calidad nutricional de su proteína, siendo también una segunda alternativa de aplicación en alimentos para realzar la funcionalidad de los mismos, considerando que actualmente existe una gran tendencia hacia la sustitución de aditivos sintéticos por productos naturales.

B. Importancia de la Proteína de Ajonjolí.

El valor aproximado del 60 % de proteína, que caracteriza a la harina desengrasada de ajonjolí, manifiesta un adecuado aporte de aminoácidos esenciales y es rica fuente de

metionina. Este aminoácido, como otros más azufrados, se consideran como carentes y limitantes en la mayoría de las proteínas de origen vegetal y de ahí la importancia de crear una fuente proteínica vegetal que contenga este aminoácido.

La calidad de la proteína se describe también por altos valores de digestibilidad que oscilan entre un 60 y 90 % y un valor de eficiencia proteínica de 1.2, con el que se obtiene un adecuado crecimiento en ratas recién destetadas y el mantenimiento de ratas adultas. Otro valor de eficiencia proteínica que se ha obtenido es de 2.9 al adicionar un 8.2 % de lisina en la harina de ajonjolí, ya que éste es el aminoácido que limita la calidad de la proteína.

En otros estudios donde se ha probado la digestibilidad mediante análisis con microorganismos, también se han obtenido buenos resultados. Además en pruebas de alimentación para humanos, las mezclas que se han hecho con proteína de ajonjolí y otras semillas, han dado excelentes resultados al ser tan efectivas en el control de manifestaciones clínicas o en desnutrición por falta de proteínas, siendo así comparada la proteína de ajonjolí con la caseína.

C. Obtención de la Proteína de Ajonjolí a partir de Subproductos de Industrias Aceiteras.

Considerando las características y propiedades que tiene la proteína de ajonjolí, el hecho de incorporarla a ciertos productos alimenticios destinados al consumo humano es de gran importancia, ya que además se estarían aprovechando los subproductos o tortas residuales provenientes de las industrias extractoras de aceite de ajonjolí, los cuales en la actualidad se destinan sólo para el consumo animal y en la obtención de fertilizantes.

A. Hipótesis nula.

La proteína de ajonjolí tiene cualidades particulares que le otorgan un buen nivel de funcionalidad, pudiéndose utilizar como agente extensor en la elaboración de productos alimenticios destinados al consumo humano.

B. Hipótesis alternativas.

1. Las propiedades de la proteína de ajonjolí no son aptas para resaltar las características funcionales de los alimentos.
2. Existen componentes naturales en el ajonjolí que limitan su consumo y el de sus productos.
3. Existen cambios químicos en la proteína de ajonjolí que ocurren durante su proceso de recuperación, pudiendo alterar sus características y disminuir las expectativas de su uso en alimentos.

A. Objetivo general.

Desarrollar un procedimiento para la elaboración de un producto alimenticio enriquecido con la proteína de ajonjolí. Lo anterior involucra la extracción de la proteína, la evaluación de su funcionalidad y la determinación de ciertos componentes que puedan ser limitantes para su empleo en la alimentación.

B. Objetivos específicos.

- Recuperación de la proteína de ajonjolí a partir de harina desengrasada bajo diferentes condiciones de extracción a nivel laboratorio.
- Estimación del grado de desnaturalización de la proteína ocurrido durante su proceso de obtención.
- Extracción de la proteína a nivel semipiloto, bajo las condiciones seleccionadas de acuerdo a su menor grado de desnaturalización.
- Evaluación de las propiedades fisicoquímicas y funcionales de la proteína.
- Identificación *in vitro* de compuestos antinutritivos y detección de metales pesados en las muestras proteínicas obtenidas.
- Evaluación de la calidad microbiológica del ingrediente a incorporar al producto final.
- Elaboración de un producto con amplio consumo en el mercado al que se adicione la proteína.

A. Materiales.

1. Materia prima.

- La materia prima utilizada para la investigación fue harina descascarillada y desengrasada de ajonjolí, la cual se obtuvo de la industria procesadora “DIPA SA de CV”, localizada en la Carretera Panamericana km 68/4. Cortazar, Gto.
- El material estándar para comparar las pruebas de funcionalidad fue aislado de soya comercial obtenido de industrias “FABPSA” de Celaya, Gto.
- Para la elaboración del producto final (yogurt) se utilizó leche entera en polvo Nido, agua purificada, azúcar común, fermentos lácticos y fruta natural.

2. Reactivos químicos.

- Las determinaciones químicas se llevaron a cabo con reactivos de grado analítico marca Analit, Merck, Bioxon, Monterrey y Sigma Chemical.
- En las pruebas de emulsificación y absorción de aceite se empleó aceite de maíz.

B. Métodos.

1. Obtención preliminar de la proteína de ajonjolí bajo diferentes condiciones.

1.1 Acondicionamiento de la materia prima.

La harina desengrasada de ajonjolí que se suministró de la industria contenía alrededor de 10 % de aceite, por lo que fue necesaria una extracción final de este componente a nivel semipiloto en un extractor líquido-líquido con capacidad aproximada de 40 L de solvente (hexano) y de 3 a 4 kg de harina. Las condiciones de operación fueron 65 °C durante 8 h y posteriormente al obtener un nivel mínimo de aceite (< 1 %), se dejó en charolas para eliminar los residuos de hexano dentro de una campana de extracción a temperatura ambiente.

El método de extracción por solventes, ha sido ampliamente utilizado con el fin de que las moléculas de aceite, no limiten la extracción de las proteínas (Okezie y Bello, 1988; Ordorica-Falomir, 1988).

1.2 Recuperación de la proteína a nivel laboratorio.

A partir de la harina desengrasada final se realizaron diferentes métodos de obtención de la proteína con el objetivo de seleccionar uno de ellos, obtener el producto y emplear éste en los análisis posteriores. Para la obtención de la proteína se utilizaron los parámetros presentados en la Tabla 9, los cuales fueron seleccionados de acuerdo a literatura y a trabajos anteriores relacionados con la extracción de proteína de ajonjolí.

Tabla 9. Condiciones del proceso de obtención de la proteína de ajonjolí a partir de harina desengrasada.

Parámetros	M ₁	M ₂	M ₃	M ₄	M ₅	M ₆	M ₇	M ₈
pH ^a	9	9	9	9	12	12	9	9
Tiempo (min) ^a	60	30	60	30	60	60	30	30
PI	NO	NO	SI	SI	NO	SI	SI	NO
Neutralización ^b	NO	NO	SI	SI	NO	SI	NO	SI
Liofilizado ^c	SI	NO	SI	NO	SI	SI	NO	NO
Aspersión ^c	NO	SI	NO	SI	NO	NO	SI	SI

M₁ - M₈ = Muestras.

PI = Precipitación isoelectrica del extracto. (Ajuste a pH 4.9 con solución diluida de HCl).

^a Condiciones de extracción. (La extracción se hizo a 30 °C en relación harina-agua 1:10).

^b Neutralización del extracto o del precipitado redisolto.

^c Método de secado. (Liofilizado @ 0.6096 mH₂O, -40°C y Aspersión @ 4kg/cm², 120°C).

2. Análisis de la proteína mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC).

2.1 Principio de la técnica.

La calorimetría diferencial de barrido es una técnica termoanalítica en la que se monitorean los cambios en las propiedades físicas o químicas de algunos materiales, como una función de la temperatura. El principio de la medición consiste en comparar la tasa de flujo calórico de una muestra y un material inerte, a los cuales se les aplica o se les resta calor a la misma velocidad. Los cambios ocurridos en la muestra asociados con la absorción o emisión de calor, originan un cambio en el flujo calórico diferencial, el cual se registra como un pico en los termogramas. El área bajo dicha señal es directamente proporcional al cambio de entalpía y su dirección indica si el evento térmico es endotérmico o exotérmico (Biliaderis, 1983).

Esta técnica se ha utilizado como una herramienta de investigación en alimentos y se ha popularizado debido al mejoramiento de los calorímetros comercialmente disponibles (Biliaderis, 1983). Los datos obtenidos a partir de este análisis son la temperatura de desnaturalización (T_d) y cambios de entalpía asociados con la transición (ΔH). El valor ΔH representa el calor neto relacionado con cambios exotérmicos (rompimiento de interacciones hidrofóbicas) y la contribución endotérmica debida al rompimiento de puentes de hidrógeno (Privalov y Khechinashvili, 1974). En sistemas alimenticios, la desnaturalización de proteínas es otro factor que contribuye a la porción exotérmica del valor de ΔH (Donovan y Ross, 1973). Es mediante estos principios que se pretende analizar los cambios ocurridos en la muestra de proteína para determinar su grado de desnaturalización desarrollado durante el procesamiento.

2.2 Procedimiento del análisis por calorimetría diferencial de barrido.

Para esta prueba se contó con la colaboración del CINVESTAV (Centro de Investigación y de Estudios Avanzados, Unidad Irapuato). La técnica se llevó a cabo en un equipo marca Du Pont 990 calibrado con un metal de alta pureza. El metal que se utilizó para dicha calibración fue indio que tiene una temperatura de fusión de 156.4 °C y una entalpía de 6.8 cal/g.

El procedimiento es sencillo y consiste en colocar la muestra en un recipiente especial, el cual se introduce en un área donde se le transmite calor bajo condiciones definidas. El problema es en ocasiones interpretar los cambios que se observan en sistemas multicomponentes (Regenstein, 1984). Para cada análisis se pesaron 2 mg de muestra en una microbalanza Perkin Elmer AD-2Z y se les adicionó 10 µL de agua. El portamuestra se selló en una engargoladora Du Pont y se pesó nuevamente para determinar la cantidad exacta del medio de suspensión adicionado.

Posteriormente se colocó en la celda de presión y se analizó a una presión de 13.6 kg/cm² con nitrógeno, una velocidad de calentamiento de 10 °C/min y un intervalo de temperatura de 30 a 130 °C, el cual se reporta para el análisis de proteínas.

Los parámetros a evaluar fueron la temperatura inicial de transición (T_o), la temperatura de desnaturalización (T_d) y la temperatura final de transición (T_f); así también, se determinó el área bajo la curva en los termogramas con la cual se hizo el cálculo de entalpía de transición (ΔH) mediante la siguiente ecuación:

$$\Delta H = [A \times B \times E \times \Delta q_s \times (60)] / m$$

en donde

$$A = \text{área bajo la curva [cm}^2 \text{]}$$

$$B = \text{distancia y tiempo de calentamiento [(}^\circ\text{C/cm) / (}^\circ\text{C/min)]}$$

$E =$ constante de calibración del equipo $= 1.011$

$\Delta q_s =$ flujo de calor [mW / cm]

$m =$ peso de muestra [mg]

A partir de esta metodología se obtuvieron resultados preliminares que posteriormente se complementaron con los obtenidos a través del ICIDCA (Instituto Cubano de Investigación de Derivados de la Caña de Azúcar).

3. Recuperación de la proteína a nivel semipiloto.

Para recuperar la proteína a mayor escala, se seleccionó uno de los ocho métodos propuestos en la obtención de la proteína a nivel laboratorio. El criterio para elegir el método más adecuado se basó en el análisis de calorimetría diferencial de barrido que permite mediante las propiedades termodinámicas de la molécula (entalpía de transición y temperatura de desnaturalización), estimar el grado de modificación originado por procesos previos.

Una vez seleccionado el método de obtención de la proteína de acuerdo al menor grado de desnaturalización, ésta se extrajo a nivel semipiloto (5 kg de harina desengrasada) empleando una relación de harina-solvente 1:10 y un pH de 9 para la extracción. La suspensión obtenida se agitó durante 2 h, después de este tiempo el extracto se separó en una centrifuga de canasta y finalmente se secó por aspersion.

El pH de extracción fue de 9, ya que la solubilidad de la proteína de ajonjolí se incrementa en intervalos alcalinos (Guerra y Park, 1975). Por otra parte, no se empleó un pH superior debido a la posible formación de compuestos indeseables como lisinoalanina (De Groot y Slump, 1969).

4. Análisis químico proximal.

La cuantificación de humedad (925.10), cenizas (942.05), fibra cruda (962.09), aceite (963.15) y proteína (920.87) se determinó bajo los métodos de análisis de la AOAC (1990). El factor de conversión para proteína que se consideró fue de 6.25 (Prakash y Nandi, 1978). Este análisis se hizo por triplicado a tres muestras que fueron: harina descascarillada y desengrasada de ajonjolí, la muestra proteínica de ajonjolí y el aislado comercial de soya.

5. Estudio fisicoquímico y funcional de la proteína de ajonjolí.

5.1 Análisis fisicoquímico.

5.1.1 pH.

Se prepararon soluciones al 1 % (p/v) de la muestra a temperatura ambiente y se les midió el pH en un potenciómetro modelo Conductronic PC 18 (Okezie y Bello, 1988).

5.1.2 Densidad a granel.

La densidad a granel se determinó mediante la técnica reportada por Okezie y Bello, (1988). En una probeta de 10 mL a peso constante, se vació la muestra hasta el nivel de 10 mL compactándola y se pesó. La determinación se hizo por diferencia de pesos y por unidad de volumen. Este análisis se realizó por triplicado y se expresó en base seca.

5.1.3 Poder calórico.

Este análisis se siguió de acuerdo a la técnica reportada por la Sociedad Americana de Ensayos y Materiales (ASTM) incluida en el manual del equipo (calorímetro Parr mod.

1341). Se pesó cuidadosamente 1g de muestra y se colocó en la cápsula portamuestra. Se adicionó 1 mL de agua destilada dentro de la bomba de oxígeno y se conectaron los extremos del alambre de ignición (10 cm) a los electrodos de la misma permitiendo el contacto del alambre con la muestra. La bomba se cerró y se le aplicó una presión de 30 atm de oxígeno, posteriormente se conectó al sistema de ignición y se colocó en la cubeta del equipo, la cual estaba preparada con 2 L de agua destilada dentro de la chaqueta de protección.

En seguida se accionó el dispositivo de agitación y se observó la temperatura inicial del agua de la cubeta, se esperaron 5 min antes de tomar la lectura y al minuto 6 se provocó la ignición; después de cada minuto se fue tomando la lectura de la temperatura y se tomó como temperatura final aquélla que no varió en un intervalo de 5 min. Finalmente se procedió a la titulación de los productos de la combustión utilizando solución de Na_2CO_3 0.0725 N para determinar el poder calorífico mediante la siguiente fórmula:

$$\text{P.C.} = [(T)(W) - e_1 - e_3] / M$$

en donde

T = elevación de la temperatura ($^{\circ}\text{C}$)

W = energía equivalente (cal/g)

e_1 = corrección para el calor de formación de HNO_3

e_1 = (mL gastados de Na_2CO_3)(1 cal/mL)

e_3 = corrección para el calor de combustión del alambre de ignición

e_3 = (centímetros de alambre combustionado)(2.3 cal/cm)

M = muestra (g)

La estandarización del equipo se hizo con ácido benzoico siguiendo el mismo procedimiento para la combustión de la muestra y la energía equivalente se determinó mediante la siguiente ecuación:

$$W = [(H)(m) + e_1 + e_3] / T$$

en donde

H= calor de combustión del ac. benzoico (6318 cal/g)

m= ácido benzoico (g)

5.1.4 Lisina disponible.

La lisina disponible se determinó mediante el método descrito por Hurrell et al., (1979). En este método se mide la capacidad de unión de los grupos básicos de las proteínas con un colorante: el naranja ácido 12 (1-fenilazo, 2-naftol, 6-ácido sulfónico) antes y después de la reacción con anhídrido propiónico para bloquear los grupos de lisina. Se prepararon dos soluciones (A y B), la solución A contenía el peso de muestra tal que tuviera 7.5 mg del total de los aminoácidos arginina, lisina e-histidina; 0.5 mL de alcohol isopropílico y 2.5 mL de solución de acetato de sodio al 16.4 %. La solución B se preparó con el peso de muestra tal que tuviera 7.5 mg del total de arginina e histidina; 0.5 mL de alcohol isopropílico, 2.5 mL de solución de acetato de sodio al 16.4 % y 0.15 mL de anhídrido propiónico. Las dos soluciones se agitaron a 20 rpm durante 15 min y se les adicionó 20 mL de colorante naranja ácido 12 (3.89 mmol/L), después se agitaron por 1½ h más a la misma velocidad.

Después de este tiempo, se centrifugaron a 3000 rpm por 30 min y de cada solución se tomó 1 mL del sobrenadante y se diluyó a 100 mL con agua destilada. Finalmente se midió la absorbancia a una longitud de onda de 475 nm en un equipo Spectronic 21D.

Cálculos:

color residual (mmol / L) = (concentración x volumen total) / 20

color combinado (mmol / L) = 3.89 - color residual

mmol combinado / 100 g de muestra = [(color combinado x 20 mL) / (1000 mL x g muestra)] / 100

gramos de lisina disponible = (mmol combinado A - mmol combinado B) x 0.1462

El valor de la concentración para determinar el color residual, se estimó mediante una curva de calibración del colorante a partir de la absorbancia, la cual se obtuvo con un factor de correlación de 0.997.

5.2 Propiedades funcionales.

5.2.1 Absorción de agua y aceite.

Se colocaron 0.5 g de muestra y 10 mL de agua destilada en un tubo para centrífuga, se mezcló muy bien durante 1 min en una mezcladora Elmeco MM-50 y se dejó reposar durante 30 min. Después de este tiempo se centrifugó a 2000 rpm por 25 min y se midió el volumen de agua libre. La absorción de agua se expresó como mL de agua/g de muestra (Okezie y Bello, 1988). Para la absorción de aceite fue el mismo procedimiento y cada prueba se hizo por triplicado.

5.2.2 Digestibilidad *in vitro*.

La técnica que se practicó fue la reportada por Hsu et al., (1977). A partir de esta metodología se determina el pH en el que la proteína ha sido hidrolizada por un sistema multienzimático, siendo un buen índice para predecir la digestibilidad aparente de la

proteína, ya que el coeficiente de correlación reportado entre la técnica *in vitro* y la digestibilidad *in vivo* en ratas fue de 0.91.

La muestra se molió y se hizo pasar por un tamiz Duvesa de malla 60 y con ella se preparó una suspensión acuosa (6.25 mg proteína/mL) en 50 mL, se le ajustó el pH a 8 con HCl o NaOH 0.1 N mientras se agitaba en baño a 37 °C. Aparte se le ajustó el mismo pH a una solución multienzimática (1.6 mg de tripsina, 3.1 mg de quimotripsina y 1.3 mg de aminopeptidasa por mL) en baño de hielo con HCl o NaOH 0.1 N. De esta solución se agregaron 5 mL a la suspensión de proteína manteniéndola con agitación a 37 °C.

La caída de pH fue evidente debido a la liberación de grupos carboxílicos y el cambio de pH se registró cada minuto después de adicionar la solución multienzimática en un período de 10 min. La digestibilidad se determinó mediante la siguiente expresión:

$$Y = 210.46 - 18.10X_1$$

en donde X_1 es el pH a los 10 minutos. Esta técnica se hizo por triplicado.

5.2.3 Gelificación.

La prueba de gelificación se determinó mediante la técnica reportada por Okezie y Bello (1988). Se prepararon suspensiones de la muestra (2-10 % p/v), se les ajustó el pH (5, 7, 9 y 11) a cada una, se colocaron en tubos de ensaye y se colocaron en baño María dejándose hervir por 1 h.

Después se enfriaron bajo corriente de agua y se mantuvieron por espacio de 2 h en refrigeración (5 °C). La concentración mínima de gelificación se determinó cuando la suspensión no se vació al inclinar el tubo.

5.2.4 Solubilidad.

Soluciones al 1 % (p/v) de muestra se prepararon y se les ajustó el pH a 2, 4, 6, 8 y 10 con HCl o NaOH 0.1 N, después se agitaron durante 30 min a temperatura ambiente y se centrifugaron a 5000 rpm por 10 min. Después de este tiempo se les determinó el porcentaje de proteína mediante el método Kjeldahl empleando el factor de 6.25 para la conversión del nitrógeno (Okezie y Bello, 1988).

5.2.5 Viscosidad.

Para la determinación de la viscosidad se siguió el método empleado por Inyang y Nwadiwaka (1992) con algunas modificaciones. Se prepararon diferentes concentraciones de la muestra (2, 4, 6, 8 y 10 % p/v) en agua destilada y a cada una se les ajustó el pH (3, 5, 7 y 9). Las muestras se agitaron durante 1 h a temperatura ambiente y se les midió la viscosidad en un viscosímetro Brookfield mod. RVT analizándolas por duplicado.

5.2.6 Actividad y estabilidad emulsificante.

La técnica empleada para esta prueba fue la de Wang y Kinsella (1976) con algunas modificaciones. Se prepararon soluciones con diferentes concentraciones de muestra (3, 5 y 7 % p/v) y se les ajustó el pH (5, 7 y 9), después se les adicionó una cierta cantidad de aceite (10, 30 y 50 % v/v) y se agitaron en una mezcladora Ozter a alta velocidad por 1 min. En seguida se distribuyeron en tubos y se centrifugaron a 3200 rpm por 5 min en una centrifuga marca Gallenkamp. La actividad de emulsión (AE) se expresó como:

$$AE = \left[\frac{\text{altura de la capa emulsificada (cm)}}{\text{altura total del contenido (cm)}} \right] \times 100$$

Para la estabilidad de la emulsión (EE) se siguió el mismo procedimiento, a excepción de que los tubos con el emulsificado se colocaron en baño a 80 °C durante 30 min, antes de centrifugar.

$$EE = [\text{altura de la capa emulsificada (cm)} / \text{altura total del contenido (cm)}] \times 100$$

5.2.7 Capacidad y estabilidad de la espuma formada.

Se usó la técnica reportada por Tsutsui (1988) con ligeras modificaciones. Se prepararon soluciones a diferentes concentraciones de la muestra (1, 2, 3 y 4 % p/v), se les ajustó el pH (3, 5, 7 y 9) con HCl o NaOH 0.1 N y se agitaron a alta velocidad en una mezcladora Ozter por 1 min en vasos de plástico graduados. En seguida se midió el volumen de espuma formado y la capacidad de espuma formada (CE) se expresó como:

$$CE = [(\text{volumen después de agitar} - \text{vol. antes de agitar}) / (\text{vol. antes de agitar})] \times 100$$

Para la determinación de estabilidad de espuma (EE) se dejó reposar cada ensayo durante 30 min y se midió el volumen residual de espuma.

$$EE = (\text{volumen de espuma después del reposo} / \text{vol. total de espuma}) \times 100$$

6. Identificación de compuestos antinutricionales mediante técnicas *in vitro*.

6.1 Inhibidores de tripsina.

La técnica para este análisis fue la reportada por Kakade (1974). Esta técnica se basa en la observación de la inhibición producida por un extracto alcalino (solución de NaOH 0.01 N) de la muestra sobre una solución estándar de tripsina.

El extracto directo o diluido se puso en contacto con una solución estandarizada de tripsina (40 mg/10 mL), y después de un cierto tiempo se determinó la actividad proteolítica remanente por medio de un sustrato sintético (BAPNA: benzoil arginina p-nitroanilida), el que produjo una coloración que se leyó en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 410 nm (dicha coloración es inversamente proporcional al contenido de inhibidores de la muestra).

Una unidad de tripsina (UT) es arbitrariamente definida como un incremento de 0.01 unidades de absorbancia a 410 nm, por 10 mL de mezcla de reacción descritas por Kakade (1974). La actividad de inhibidores de tripsina se expresa en términos de unidades de tripsina inhibida (UTI). La muestra se analizó en forma directa y también a diferentes diluciones (1:1, 1:5, 1:10, 1:25 y 1:50). El seguimiento del método se describe en la Tabla 10. Las lecturas de absorbancia se llevaron a cabo en un espectrofotómetro marca Beckman DU-65.

6.2 Hemaglutininas.

La determinación de hemaglutininas se hizo mediante la técnica de Jaffé (1980). En esta técnica se determina la presencia de estos compuestos tóxicos contenidos en la muestra, mediante la acción aglutinante que éstos presentan en glóbulos rojos.

Se colocó 1 g de muestra, 0.1 g de polivinilpirrolidona y 10 mL de solución reguladora de fosfatos de pH 7.4 en un vaso de precipitados, esta solución se mantuvo en agitación a 5 °C durante 18 h. Después se centrifugó a 3500 rpm durante 15 min y el extracto se separó desechando el precipitado. Del extracto se tomaron 5 mL para diluir posteriormente.

Tabla 10. Método resumido para la determinación de inhibidores de tripsina.

Clave *	Extracto (mL)	Agua (mL)	Tripsina (mL)	BAPNA (mL) a 37 °C	Ac. acético al 30 % (mL)
B1	1.8	0.2	2+1 Acido	5	-
1	1.8	0.2	2	5	1
1'	1.8	0.2	2	5	1
B ₂	1.4	0.6	2+1 Acido	5	-
2	1.4	0.6	2	5	1
2'	1.4	0.6	2	5	1
B ₃	1.0	1.0	2+1 Acido	5	-
3	1.0	1.0	2	5	1
3'	1.0	1.0	2	5	1
B ₄	0.6	1.4	2+1 Acido	5	-
4	0.6	1.4	2	5	1
4'	0.6	1.4	2	5	1
B _R	0.0	2.0	2+1 Acido	5	-
R	0.0	2.0	2	5	1
R'	0.0	2.0	2	5	1

(Kakade, 1974).

* B₁, B₂, B₃, B₄ y B_R son tubos blanco. La adición de BAPNA (benzoil arginina p-nitroanilida) fue a los 10 min después de agregar la tripsina, y para adicionar el ácido acético también se esperó 10 min, éste último fue con objeto de inhibir la acción enzimática y detener la reacción.

Aparte se recibieron 3 mL de sangre humana fresca (siempre de la misma fuente) en un tubo con solución de EDTA (ácido etilen diamino tetra-acético) al 10 %. Se dejó reposar durante 20 min para la separación del sobrenadante y se agitó ligeramente. Después se centrifugó a 1500 rpm por 5 min y el sobrenadante se separó en otro tubo.

Del paquete globular se tomaron 6 gotas y se les adicionó 7 mL de solución reguladora, se volvió a centrifugar por 5 min a 1500 rpm y así se hicieron varios lavados hasta que el sobrenadante quedó cristalino. Con el precipitado se preparó una suspensión de eritrocitos al 2 % en solución reguladora.

En seguida se colocaron 7 gotas de solución reguladora en forma distribuída en cada caja de petri y se les agregaron 50 μ L del extracto ya preparado en forma de dilución seriada de orden 2 (1:2, 1:4, 1:8, etc.). Después se les adicionó la suspensión de eritrocitos (50 μ L) a cada gota preparada, se mezcló y se dejó en reposo durante 1 h a temperatura ambiente.

El resultado se registró como la menor dilución a la que formó aglutinación. Los tipos de sangre humana analizada fueron A y O, RH (+).

6.3 Acido fítico.

Esta determinación se llevó a cabo mediante la técnica reportada por Tangendjaja et al. (1980). Se colocó 1 g de muestra en un matraz Erlenmeyer y se le agregó 25 mL de ácido tricloroacético al 3 %, se puso en agitación por 30 min y se centrifugó durante 20 min a 4000 rpm.

Después se filtró en Millipore (0.22 mm) y se tomaron alícuotas de 25 μ L para la inyección en cromatografía líquida. El eluente que se empleó fue acetato de sodio (0.005 M) a una velocidad de flujo de 2 mL/min.

7. Determinación de metales pesados por absorción atómica.

7.1 Calcio, arsénico y plomo.

La preparación de la muestra para determinar estos metales se llevó a cabo por dos métodos, digestión e incineración. Se colocaron 5 g de muestra en un matraz y se adicionaron 10 mL de HNO_3 y 5 mL de H_2SO_4 , el matraz se colocó bajo un extractor de aire y en una parrilla a temperatura elevada, dejándose hasta digestión completa. Después se diluyó a 100 mL con agua desionizada y se analizó por espectrometría de absorción atómica en un equipo Perkin-Elmer mod. 2280.

En el segundo método de preparación se pesó 1 g de muestra y se calcinó a $550\text{ }^\circ\text{C}$ por 1 h, se adicionaron 5 gotas de HCl al 10 % y se dejó reposar por 10 min; después se pasó a un matraz de 100 mL y se aforó con agua desionizada. El análisis se hizo como en la muestra anterior y las condiciones se indican en la Tabla 11.

7.2 Selenio y mercurio.

La técnica empleada para estos metales fue la reportada por Preciado-Cortés (1992). Se pesó 1 g de muestra y se colocó en un matraz Erlenmeyer al cual se adicionaron 20 mL de ácido nítrico al 30 %; se colocó en autoclave a $90\text{ }^\circ\text{C}$ por 1 h y después se filtró y se diluyó a 25 mL con agua desionizada.

Para estos metales se llevó a cabo una reducción de los mismos, con borohidruro de sodio al 3 % en presencia de NaOH al 1 %. Las condiciones de lectura se muestran en la Tabla 11.

Tabla 11. Condiciones de lectura por absorción atómica para metales pesados.

Metal	Límite de detección (mg/L)	Longitud de onda (nm)	Flama
Calcio	0.001	422.7	Aire - acetileno
Arsénico	0.100	193.7	Aire - acetileno
Plomo	0.010	283.3	Aire - acetileno
Selenio	0.07	196.0	Aire - acetileno
Mercurio	0.200	253.7	Aire - acetileno

(Perkin-Elmer, 1982).

8. Evaluación microbiológica.

8.1 Cuenta estándar total.

La muestra se preparó en dilución 1:1000 con solución de fosfatos y se transfirió 1 mL a una caja de petri, después se agregaron 20 mL de medio de cultivo para cuenta estándar a una temperatura de 45 °C, se homogeneizó completamente y se dejó solidificar. La incubación se realizó en posición invertida a 35 °C durante 48 h (Meyer, 1984). La prueba se hizo por duplicado.

8.2 Hongos y levaduras.

Se tomó 1 mL de la dilución 1:1000 de muestra y se colocó en una caja de petri, después se le adicionaron 20 mL de agar Sabouraud a 45 °C y se homogeneizó. Una vez solidificada se incubó a 37 °C durante 48 ± 2 h (Meyer, 1984). La prueba se hizo por duplicado.

8.3 Coliformes.

Se transfirió 1 mL de la dilución 1:1000 de muestra a una caja de petri y se le adicionaron 20 mL de agar rojo bilis a una temperatura de 45 °C, se homogeneizó y se dejó solidificar. La incubación fue a 32 °C por 24 ± 2 h Meyer (1984). La prueba se hizo por duplicado.

9. Elaboración de yogurt suplementado con proteína de ajonjolí.

Se hicieron diferentes preparaciones de yogurt variando la proporción de proteína, azúcar, sólidos de leche y fermentos lácticos (Tabla 12). En 300 mL de agua se disolvió un preparado homogéneo de muestra proteínica, azúcar y leche en polvo, se colocó en baño María a una

temperatura de 65 °C durante 30 min y después se enfrió rápidamente hasta una temperatura de 42 °C, en ese momento se inocularó el fermento láctico (cepa liofilizada comercial de *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus bulgaricus*, EZAL MY800) y se mantuvo a esa temperatura durante 4 h, tiempo en el que alcanzó un pH de 4.2.

10. Análisis sensorial.

10.1 Evaluación preliminar.

Esta evaluación se llevó a cabo mediante un experimento en el que se realizaron nueve ensayos en base a cuatro factores y tres niveles originados por un arreglo ortogonal L_9 (3^4) como el que se indica en la Tabla 12 (Montgomery, 1984). Las diferentes formulaciones obtenidas se analizaron sensorialmente y se eligieron dos de ellas de acuerdo a su mejor sabor y apariencia, el propósito de esta selección preliminar fue el de disminuir el número de muestras que se incluirían posteriormente en el análisis sensorial definitivo.

10.2 Diseño del estudio sensorial.

10.2.1 Prueba de hipótesis.

Hipótesis nula: no hay diferencia entre las muestras $\mu_1 = \mu_2$

Hipótesis alterna: las muestras son diferentes $\mu_1 \neq \mu_2$

Nivel de error tolerable $\alpha = 0.05$

Tabla 12. Formulaciones del yogurt elaborado.

Ensayo	Leche en polvo (%)	Concentrado proteínico (%)	Azúcar (%)	Fermentos lácticos (%)
1	11	1.0	3.5	0.0032
2	11	1.5	5.0	0.0056
3	11	2.0	6.5	0.0080
4	12	1.0	5.0	0.0080
5	12	1.5	6.5	0.0032
6	12	2.0	3.5	0.0056
7	13	1.0	6.5	0.0056
8	13	1.5	3.5	0.0080
9	13	2.0	5.0	0.0032

10.2.2 Tipo de prueba sensorial.

El método que se seleccionó fue de tipo afectivo y se aplicó a cien jueces, quienes no requieren de entrenamiento (según el método) y sólo se pidió su deseo por participar. Los formatos que a continuación se presentan fueron las encuestas aplicadas y las claves para identificar las muestras de yogurt fueron 968 y 711.

FORMATO No. 1. ANALISIS DE ACEPTACION Y PREFERENCIA DEL YOGURT.

NOMBRE: _____

FECHA: _____ SERIE: _____

Instrucciones: Indique con una "X" su aceptación al probar cada muestra de yogurt presentada.

Muestra	Acepta:	SI	NO
968		—	—
711		—	—

Instrucciones: Indique con el número correspondiente el orden de su menor (=1) a mayor (=2) preferencia por cada muestra de yogurt. No se permiten empates.

Muestra	968	711
Preferencia	—	—

GRACIAS!

FORMATO No. 2. EVALUACION DE LOS ATRIBUTOS DEL YOGURT ELABORADO.

Favor de evaluar las muestras de izquierda a derecha. En cada atributo, escribir el número de muestra cerca del punto de la escala que mejor describa lo que percibes en cada muestra.

AGRADO TOTAL

- ___ gusta extremadamente
- ___ gusta largamente
- ___ gusta moderadamente
- ___ gusta ligeramente
- ___ ni gusta ni disgusta
- ___ disgusta ligeramente
- ___ disgusta moderadamente
- ___ disgusta largamente
- ___ disgusta extremadamente

DULZURA

- ___ gusta extremadamente
- ___ gusta largamente
- ___ gusta moderadamente
- ___ gusta ligeramente
- ___ ni gusta ni disgusta
- ___ disgusta ligeramente
- ___ disgusta moderadamente
- ___ disgusta largamente
- ___ disgusta extremadamente

ACIDEZ

- ___ gusta extremadamente
- ___ gusta largamente
- ___ gusta moderadamente
- ___ gusta ligeramente
- ___ ni gusta ni disgusta
- ___ disgusta ligeramente
- ___ disgusta moderadamente
- ___ disgusta largamente
- ___ disgusta extremadamente

TEXTURA

- ___ gusta extremadamente
- ___ gusta largamente
- ___ gusta moderadamente
- ___ gusta ligeramente
- ___ ni gusta ni disgusta
- ___ disgusta ligeramente
- ___ disgusta moderadamente
- ___ disgusta largamente
- ___ disgusta extremadamente

APARIENCIA

- ___ gusta extremadamente
- ___ gusta largamente
- ___ gusta moderadamente
- ___ gusta ligeramente
- ___ ni gusta ni disgusta
- ___ disgusta ligeramente
- ___ disgusta moderadamente
- ___ disgusta largamente
- ___ disgusta extremadamente

NIVEL DE DULZURA

- ___ extremadamente muy alto
- ___ largamente muy alto
- ___ moderadamente muy alto
- ___ ligeramente muy alto
- ___ en su punto
- ___ ligeramente muy bajo
- ___ moderadamente muy bajo
- ___ largamente muy bajo
- ___ extremadamente muy bajo

NIVEL DE ACIDEZ

- ___ extremadamente muy alto
- ___ largamente muy alto
- ___ moderadamente muy alto
- ___ ligeramente muy alto
- ___ en su punto
- ___ ligeramente muy bajo
- ___ moderadamente muy bajo
- ___ largamente muy bajo
- ___ extremadamente muy bajo

NIVEL DE ESPESURA

- ___ extremadamente muy alto
- ___ largamente muy alto
- ___ moderadamente muy alto
- ___ ligeramente muy alto
- ___ en su punto
- ___ ligeramente muy bajo
- ___ moderadamente muy bajo
- ___ largamente muy bajo
- ___ extremadamente muy bajo

HOMBRE: ___ MUJER: ___ EDAD: menor de 20 ___ 21 a 29 ___ 30 a 39 ___ 40 a 49 ___ 50 o más ___

FRECUENCIA DE CONSUMO: varias veces al día ___ una vez al día ___ dos veces por semana ___ una vez por semana ___ menos de una vez por semana ___

GRACIAS.

1. Obtención preliminar de la proteína de ajonjolí bajo diferentes condiciones.

a. Acondicionamiento de la materia prima.

El acondicionamiento de la materia prima (harina descascarillada y desengrasada) dio por resultado una harina con un contenido de aceite menor al 1 % y una apariencia aceptable en olor, color y tamaño de partícula. Esta harina que se utilizó como materia prima tuvo un proceso previo de extracción de aceite por prensado, en donde se eliminó la mayor cantidad de este componente, por lo que esta operación, probablemente influyó en resultados posteriores.

b. Recuperación de la proteína a nivel laboratorio.

Las extracciones de proteína que se hicieron dieron como resultado ocho diferentes muestras con características similares en cuanto a color. Estas tenían diferencias en olor, ya que algunas presentaban cierta similitud a condimento sabor a pollo y otras, las que fueron liofilizadas (M_1, M_3, M_5, M_6), carecían de olor y su partícula era de un tamaño mayor que el de las muestras secadas por aspersión (M_2, M_4, M_7, M_8).

2. Análisis de la proteína mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC).

Los resultados que se obtuvieron a partir de esta técnica mostraron el grado de modificación que la proteína adquirió debido a las diferentes etapas de su procesamiento. Se encontraron diferencias en los resultados en cuanto al efecto que tuvo el pH de extracción, la

precipitación isoelectrónica y el método de secado. Sin embargo, no se precisaron tendencias definidas en los resultados debido a la combinación de varios factores a la vez en cada extracción.

Los resultados de este análisis son los termogramas de las Figuras 5 y 6, y los datos se resumen en la Tabla 13. Conforme a dichos resultados se observa que las muestras M_1 y M_2 que difieren sólo en el método de secado, tienen entalpías de transición diferentes ($M_1=212.2$ J/g, $M_2=131.3$ J/g). Esto sugiere una menor desnaturalización para la proteína que se secó por liofilizado (M_1), ya que al mostrar mayor energía de transición, su conformación estructural originada durante el proceso, fue menos afectada. Esto coincide con el hecho de que en el proceso de liofilizado no se implican altas temperaturas, que pudieran modificar la estructura proteínica significativamente, en comparación con el método de secado por aspersión, en donde probablemente se obtuvo mayor alteración estructural debido a la temperatura de 120 °C que se utilizó.

En forma general las muestras que se secaron por liofilizado presentaron mayor entalpía de transición y por consecuencia menor desnaturalización, es decir, si una proteína tiene estabilidad conformacional, va a requerir mayor energía para obtener un cierto grado de desnaturalización (Biliaderis, 1983).

Las señales dobles que aparecen en los termogramas y que son características de las muestras M_2 , M_4 , M_6 y M_8 , probablemente representan la mezcla de dos componentes proteínicos, o bien, el efecto causado por cambios estructurales en las moléculas (Ordorica-Falomir et al., 1988).

Este fenómeno se originó independientemente del pH de extracción, de la forma en que se secó (extracto o precipitado) y del método de secado (Figuras 5 y 6).

Tabla 13. Temperaturas y entalpía de transición de los concentrados proteínicos de ajonjolí bajo diferentes condiciones de obtención.

Muestra	pH	Acondicionamiento	Secado	T ₀ (°C)	T _d (°C)	T _f (°C)	ΔH (J/g)
M ₁	9	extracto s/neutralizar	liofilizado	35.0	117.2	147.5	212.2
M ₂	9	extracto s/neutralizar	aspersión	68.5	120.3	165.0	131.1
				165.0	176.6	182.5	4.7
M ₃	9	PI neutralizado	liofilizado	44.0	108.5	173.0	241.2
M ₄	9	PI neutralizado	aspersión	54.0	65.4	71.5	3.8
				71.5	113.5	164.0	147.1
M ₅	12	extracto s/neutralizar	liofilizado	32.0	112.4	152.5	233.3
M ₆	12	PI neutralizado	liofilizado	48.0	62.	70.0	2.3
				70.0	112.7	165.0	140.2
M ₇	9	PI s/neutralizar	aspersión	75.0	113.6	160.0	100.6
M ₈	9	extracto neutralizado	aspersión	54.0	124.5	162.5	124.4
				162.5	174.1	180.0	2.2

PI = punto isoelectrico.

T₀ = temperatura inicial de transición

T_d = temperatura de desnaturalización

T_f = temperatura final de transición

ΔH = entalpía de transición

(velocidad de calentamiento en el análisis: 10 °C/min)

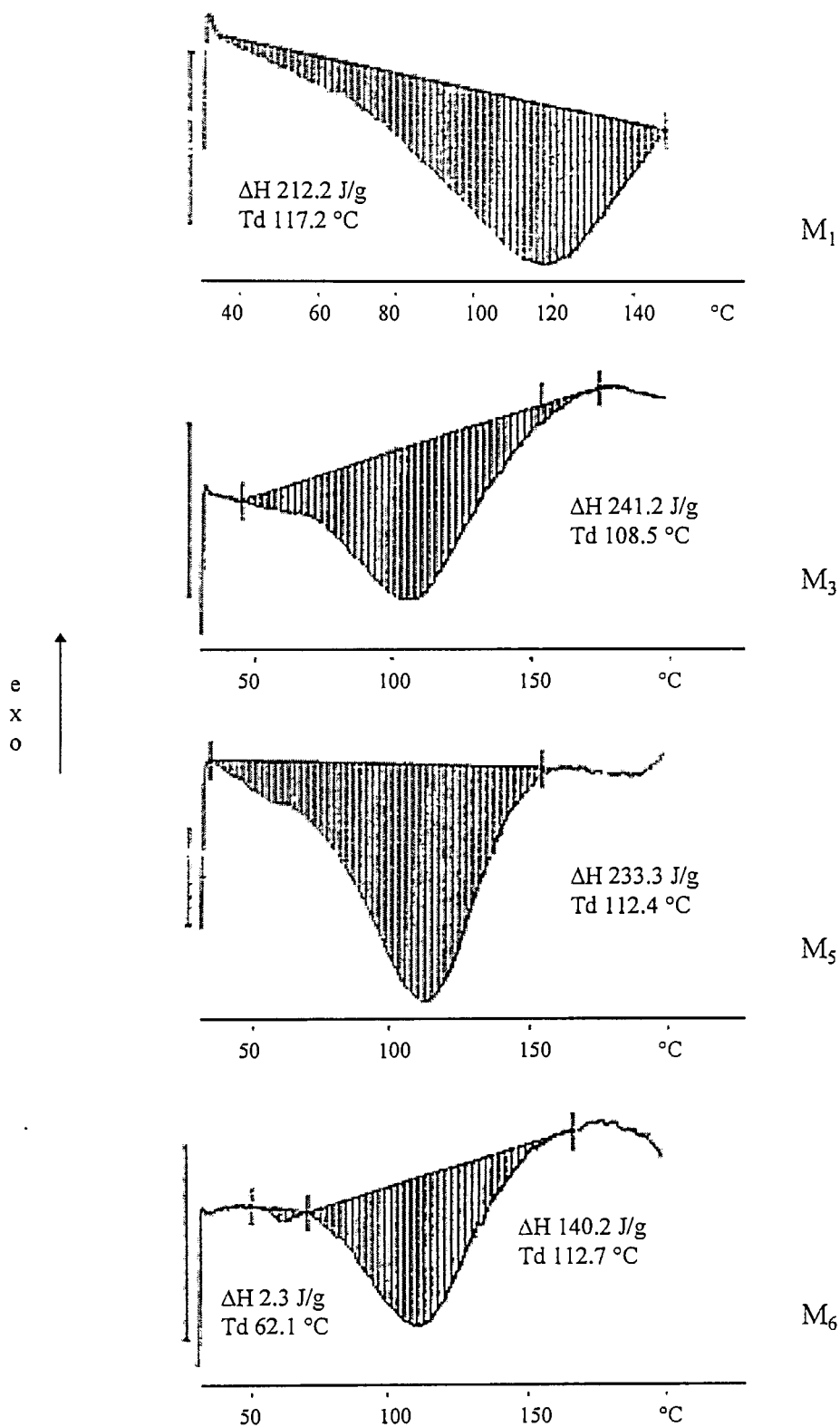


Figura 5. Termogramas representativos del análisis de calorimetría diferencial de barrido de la proteína de ajonjolí (secado por liofilizado).

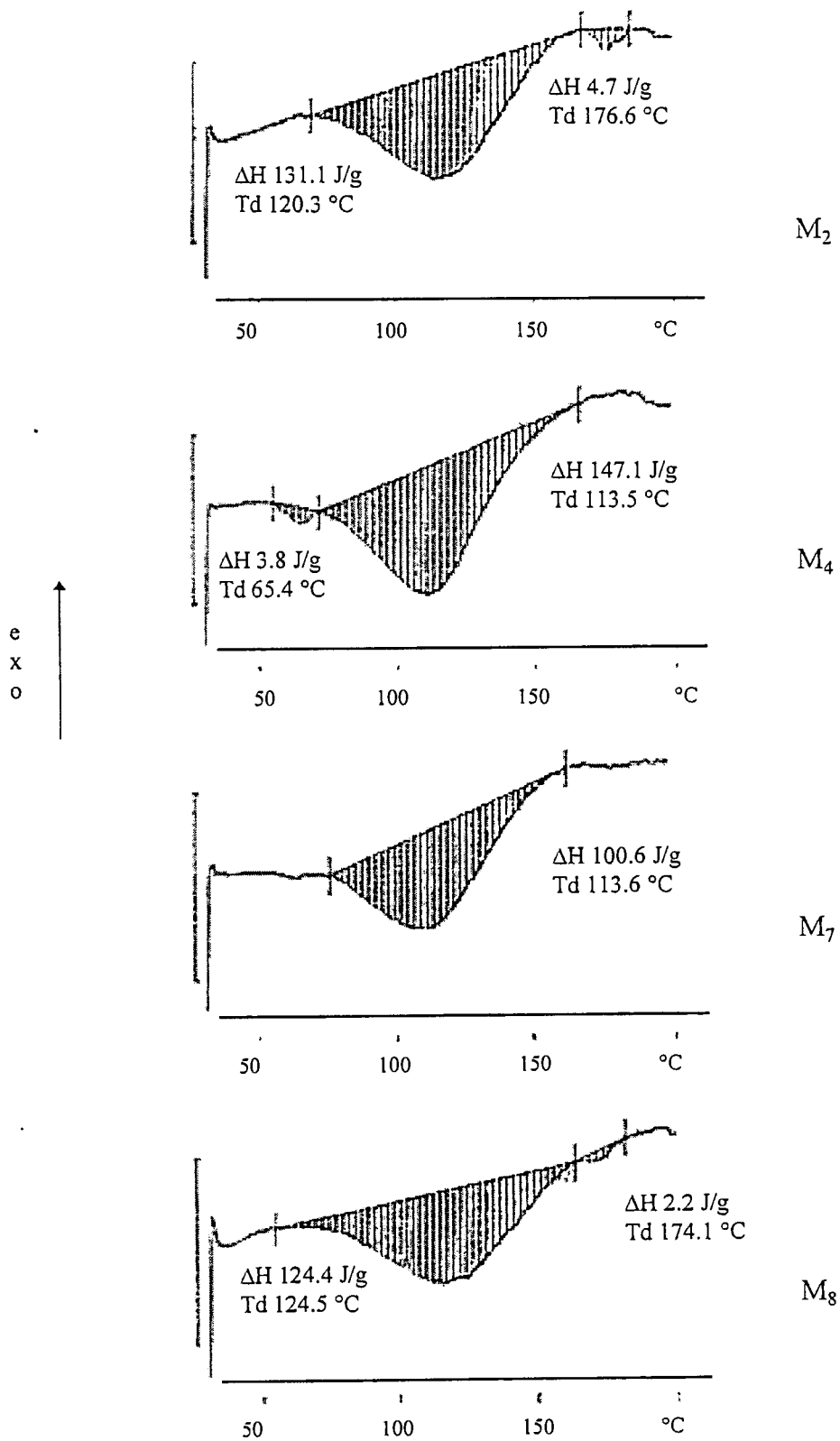


Figura 6. Termogramas representativos del análisis de calorimetría diferencial de barrido de la proteína de ajonjolí (secado por aspersión).

En la comparación de las temperaturas de desnaturalización de las muestras M_1 (117.2 °C) y M_2 (120.3 °C) con respecto a sus entalpías, se observa que para una mayor entalpía, la temperatura de desnaturalización es menor. Esto se podría traducir como una menor estabilidad térmica en la proteína que posee menor grado de desnaturalización debido a su procesamiento (mayor entalpía).

Estos mismos valores de temperaturas dan a conocer que la proteína de ajonjolí presenta una buena estabilidad térmica que se puede comparar con la de proteína de avena, la cual presentó temperaturas de desnaturalización entre 114 y 118 °C, bajo el efecto de tratamientos térmicos con temperaturas de 100 y 110 °C (Ma y Harwalkar, 1988). Asimismo la muestra M_8 que mostró una temperatura de desnaturalización de 124.5 °C, apoya lo anterior.

Las temperaturas de desnaturalización de 174.1 y 176.6 °C que presentan las muestras M_2 y M_8 respectivamente, representan una mayor estabilidad térmica en esas porciones proteínicas; sin embargo, siendo estas transiciones de baja energía, podrían ser no relevantes.

Los resultados de estas dos muestras que difieren en la etapa de neutralizado, indicaron una semejanza en cuanto a la doble señal que presentan (Figura 6); sin embargo, la entalpía de M_2 fue de 131.1 J/g comparada con la de M_8 de 124.4 J/g, lo que supone que la neutralización de M_8 tuvo algún efecto sobre la proteína que dio lugar a una disminución de la entalpía.

Las muestras M_3 y M_4 difieren en el método de secado y sus entalpías de transición fueron de 241.2 y 147.1 J/g respectivamente. Esta diferencia muestra el efecto que tuvo el método de secado, ya que la muestra M_3 (mayor de energía) se secó por liofilizado,

indicando una menor desnaturalización dada por el proceso, en comparación a M_4 que se secó por aspersión, etapa que implicó una temperatura de 120 °C.

La muestra M_5 presenta una entalpía de transición de 233.3 J/g comparada con la muestra M_6 que tiene un valor de 140.2 J/g. Estas dos muestras tienen diferente forma de acondicionamiento para su secado (extracto o punto isoeléctrico y neutralización o falta de ella) y se sugiere que la menor entalpía de transición (muestra M_6), se debe tal vez a las modificaciones estructurales ocasionadas por la precipitación de la proteína, lo cual tal vez originó una mayor desestabilización y por consiguiente el requerimiento de menos energía para desnaturalizarse durante el análisis térmico. Su temperatura de desnaturalización fue alrededor de 112 °C.

De igual manera las muestras M_7 y M_8 que difieren también en su acondicionamiento, muestran el mismo fenómeno (menor entalpía de transición para la muestra que se precipitó). En el caso de las muestras M_1 (pH 9) y M_5 (pH 12) que difieren en el pH de extracción, la entalpía más alta se observó a pH 12, esto podría atribuirse a modificaciones estructurales que tienden a disminuir la contribución de las reacciones exotérmicas (ruptura de enlaces hidrofóbicos) y por consecuencia aumenten la contribución endotérmica (Má y Harwalkar, 1988).

En las muestras M_3 y M_6 que se obtuvieron también a diferente pH y en este caso, con precipitación isoeléctrica, se observa una mayor entalpía de transición a pH 9 ($M_3 = 241.2$ J/g), lo cual indica una mayor desnaturalización de la proteína extraída a pH 12 ($M_6 = 140.2$ J/g).

Es importante señalar que la influencia de varios factores a la vez en el análisis termodinámico de una proteína, no permite suponer claramente una tendencia en los

resultados, debido en parte a la complejidad de los sistemas proteínicos, los cuales pueden estar interactuando con otros componentes. A pesar de lo anterior, se obtuvieron datos interesantes en este análisis como fue el intervalo de temperaturas de desnaturalización, que va de 62.1 °C hasta 176.6 °C y que se traduce como una buena estabilidad térmica de la proteína de ajonjolí, siendo conveniente si se quiere aplicar en alimentos que requieren de calentamiento para su procesamiento.

De acuerdo a estos resultados se seleccionó una de las ocho muestras para llevar a cabo análisis posteriores. Esta selección se hizo con el propósito de trabajar con una muestra que tuviera el menor grado de desnaturalización de la proteína y pudiera tener mayor representatividad de su forma nativa. También se consideró el método de secado más económico, ya que se pretendía obtener una mayor cantidad del producto.

Por lo tanto, considerando que a mayor entalpía de transición la proteína presenta una menor desnaturalización debida a su procesamiento (Biliaderis, 1983), se optó por elegir la M₂, la cual se extrajo a pH 9 y se secó por aspersion. En esta muestra la entalpía de transición de la proteína fue de 131.1 J/g y su temperatura de desnaturalización de 120.3 °C.

3. Recuperación de la proteína a nivel semipiloto.

Al seleccionar la muestra mediante la prueba de calorimetría, se obtuvieron las condiciones para la extracción a mayor escala. De esta práctica se obtuvo un producto de partícula fina, color marfil y con un aroma dulce que no se percibió en ninguna muestra anterior. Otra característica notable del producto fue su higroscopicidad y un estado electrostático. El rendimiento obtenido fue del 21 % en peso (base húmeda), obteniéndose aproximadamente 1 kg de producto final.

4. Análisis químico proximal.

En la Tabla 14 se muestran los resultados (base húmeda) del análisis proximal aplicado a tres muestras diferentes: materia prima desengrasada por solvente (M_0), muestra proteínica de ajonjolí obtenida a pH 9 y secado por aspersion (M_2), y aislado comercial de soya (M_{sc}).

Los componentes de la muestra M_0 revelan el alto contenido de proteína que queda en la harina cuando el aceite se extrae del material integral hasta una cantidad mínima (0.13 %). Estos datos son similares con los reportados por Krishna-Murthy et al. (1960) para una muestra de ajonjolí descascarillado y desengrasado.

La muestra M_2 tiene un porcentaje de proteína menor debido quizá en parte al método de extracción y al historial de la materia prima que por ser de origen industrial, tenía ya etapas de descascarillado y desengrasado por el método de prensado donde se alcanzan temperaturas elevadas. El contenido de proteína que se obtuvo en esta muestra fue del 51.5 % y esto limitó el hecho de considerarla como un aislado proteínico de ajonjolí y más bien se clasificó como un concentrado. En las muestras M_2 (concentrado de proteínico de ajonjolí) y M_{sc} (aislado de soya) los porcentajes de aceite y fibra cruda no fueron detectables.

5. Propiedades fisicoquímicas y funcionales de la proteína de ajonjolí.

Los resultados que se obtuvieron de estas determinaciones se compararon con el aislado de soya tipo comercial y en la Tabla 15 se agrupan los valores de algunas propiedades. El pH que presentó el concentrado de ajonjolí (M_2) fue de 6.36, en tanto que el del aislado de soya (M_{sc}) fue de 7.1.

Tabla 14. Composición química de los productos de ajonjolí y el aislado de soya ^a.

Componente (%)	M ₀	M ₂	M _{sc}
Humedad	5.24 ± 0.09	2.87 ± 0.27	5.62 ± 0.21
Cenizas	7.30 ± 1.04	8.26 ± 0.07	5.39 ± 0.05
Proteína	62.4 ± 1.44	51.5 ± 0.25	82.33 ± 0.90
Aceite	0.13 ± 0.05	ND	ND
Fibra cruda	5.40 ± 0.3	ND	ND
Extracto libre de N ^b	19.53	37.37	6.66

M₀ = harina descascarillada y desengrasada (materia prima)

M₂ = muestra proteínica de ajonjolí

M_{sc} = aislado comercial de soya

ND = no detectable

^a resultados de tres determinaciones

^b determinación por diferencia de los demás componentes

Tabla 15. Propiedades físico-funcionales del concentrado proteínico de ajonjolí y del aislado de soya ^a.

Propiedad físico-funcional	M ₂ (ajonjolí)	M _{sc} (soya)
pH ^b	6.36 ± 0.09	7.10 ± 0.30
Densidad a granel (g/cm ³)	0.42 ± 0.01	0.41 ± 0.01
Poder calórico (kcal/g)	4.27 ± 0.01	4.38 ± 0.03
Absorción de agua (mL agua/g muestra)	1.75 ± 0.04	5.15 ± 0.15
Absorción de aceite (mL aceite/g muestra)	3.25 ± 0.07	2.20 ± 0.07
Digestibilidad <i>in vitro</i> (%)	79.0 ± 1.00	87.0 ± 0.41
Lisina disponible (g/100g muestra)	1.92 ± 0.01	7.6 ± 0.00

^a Determinaciones que se llevaron a cabo a temperatura ambiente y los resultados son la media de tres determinaciones.

^b Determinado en solución al 1% p/v.

Este factor es importante debido a que otras propiedades funcionales como la solubilidad, emulsificación y la formación de espuma, dependen de los cambios en el pH del medio y de los productos involucrados.

Los resultados de pH aquí presentados son similares a los reportados por Dench et al. (1981) para aislados de ajonjolí y soya en soluciones al 3 %. En la práctica, la obtención de aislados comerciales puede incluir una etapa final en la que se ajuste el pH cerca de la neutralidad con el propósito de aumentar su solubilidad en agua y mejorar su incorporación en cualquier sistema alimenticio.

Otra propiedad que se registró fue la densidad a granel de cada muestra y a partir de estos valores se deduce que existe poca diferencia en cuanto al tamaño de su partícula. Esta característica de tamaño se relaciona con la densidad, siendo de gran interés la relación peso-volumen que presentan, para propósitos de empaquetado y transporte.

El poder calórico de un alimento se considera como un parámetro que muestra la capacidad del material para generar calor a partir de su combustión, lo cual refleja el aporte de calorías de dicho alimento. En el caso de las proteínas su valor energético es alrededor de 4 kcal/g comparado con el de los lípidos que es de 9 kcal/g aproximadamente. Para este caso el valor que se obtuvo fue de 4.27 kcal/g en la muestra M₂, siendo comparable con el aislado de soya que fue de 4.38 kcal/g.

En la misma Tabla 15 aparecen los valores de absorción de agua y aceite de las muestras analizadas. La absorción de agua en una proteína es una función importante si se aplica en alimentos como quesos, embutidos y pastas.

La muestra M₂ presentó menor capacidad de absorción de agua comparada con la muestra M_{sc} que fue de 5.15 mL/g. Lo anterior fue contrario a la absorción de aceite, y en

este caso la muestra M₂ mostró un valor de 3.25 mL/g comparado con el de 2.2 mL/g para el aislado de soya.

Estas propiedades están estrechamente relacionadas con el balance que existe de grupos hidrofílicos e hidrófobos en las proteínas y es debido a esta característica que hay diferencia con la proteína de soya. Los resultados obtenidos fueron comparables con los de otros autores en donde se observó que la capacidad de absorción de aceite en la proteína de ajonjolí fue superior a la absorción de agua (Dench et al., 1981; Inyang y Nwadiwaka, 1992).

Aunque este fenómeno fue de naturaleza contraria a la proteína de soya, en otros estudios se observó que el aumento en la temperatura del agua y el aceite aplicados en el experimento, aumentó estas propiedades, lo que es importante si se implican etapas de calentamiento en la manufactura del alimento adicionado con el suplemento proteínico de ajonjolí (Inyang y Nwadiwaka, 1992).

Por otro lado la técnica utilizada para determinar la digestibilidad de la proteína, señaló que el concentrado proteínico de ajonjolí (M₂) tiene un nivel cercano al 80 %, el cual se considera aceptable comparándolo con el de aislado de soya que alcanzó un valor de 87 %. Hsu (1977) señaló que valores altos de digestibilidad indican un mayor grado de modificación estructural en las proteínas, lo que da lugar a una mayor disponibilidad de aminoácidos y a un mejor ataque enzimático.

A partir de la idea anterior se deduce que la proteína de ajonjolí cuenta con menor grado de modificación estructural. En otros estudios se reportaron valores de digestibilidad de la harina de ajonjolí de 66 %, comparado con un 81.4 % cuando ésta se sometió a un descascarillado, indicando que la presencia de cascarilla disminuye la digestibilidad *in vitro*

de las proteínas; además, se detalló que el proceso de prensado y la extracción por solvente, disminuyeron este parámetro nutricional hasta un 70.4 % (Shamanthaka Sastry et al., 1974).

Finalmente en la Tabla 15 aparece la cantidad de lisina disponible que contiene la proteína de ajonjolí después de haberse extraído en medio alcalino. Según el valor que se obtuvo de 1.9 g de lisina/100 g de muestra, la formación de lisinoalanina se puede considerar como baja o nula, debido a que el contenido de lisina de esta proteína es limitante por naturaleza, no se utilizaron temperaturas elevadas para su extracción y el pH de 9 que se utilizó no fue altamente alcalino de tal forma que se originara este compuesto antinutricional. La comparación con la proteína de soya es clara y se resalta la importancia de esta última proteína como rica fuente de lisina.

En otras investigaciones realizadas para detectar la pérdida máxima de lisina disponible en la proteína de ajonjolí, se reportaron datos menores al 15 %, aún por debajo de condiciones extremas de calentamiento durante el proceso (Shamanthaka Sastry et al., 1974).

a. Gelificación.

Como se muestra en la Tabla 16, la capacidad de gelificación del concentrado de ajonjolí fue nula a cualquier pH en todas las concentraciones analizadas. Comparándolo con el aislado de soya, éste mostró formación de gel a pH 7 y 9 en la concentración de 12 y 14 % respectivamente; estos datos resultaron ser semejantes a los reportados por otros autores para proteínas de origen vegetal (Okezie y Bello, 1988).

Como se sabe, la gelificación se considera como la formación de una red continua de cierto orden que requiere altas concentraciones de proteínas globulares (Schmidt, 1981).

Tabla 16. Comparación de gelificación entre el concentrado proteínico de ajonjolí y el aislado de soya en función del pH.

Formación de gel								
Concentrado de ajonjolí					Aislado de soya			
Muestra (%)	pH 5	pH 7	pH 9	pH 11	pH 5	pH 7	pH 9	pH 11
2	-	-	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-	-	-
8	-	-	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	-	-	-
12	-	-	-	-	-	Gel	-	-
14	-	-	-	-	-	Gel	Gel	-
16	-	-	-	-	-	Gel	Gel	-
18	-	-	-	-	-	Gel	Gel	-
20	-	-	-	-	-	Gel	Gel	-

No obstante, algunas proteínas son capaces de formar un gel a concentraciones relativamente bajas a partir de su buena capacidad de absorción de agua libre. Debido a que la primera reacción para formar un gel se acelera a altas y la segunda a bajas temperaturas, las características de éste dependerá en gran medida del historial térmico de las proteínas para obtener el efecto gelificante.

A partir de lo anterior y de acuerdo a las características que presentaron las muestras durante el análisis, se determinó que la proteína de ajonjolí no presentó capacidad de gelificación alguna, y en su lugar tal vez se originó un texturizado. Lo anterior se deduce a partir de otro estudio en el que el proceso de texturizado de harina de ajonjolí, requirió alrededor del 50 % de proteína (muy semejante al concentrado de ajonjolí), un pH entre 7 y 8.5 y una temperatura de 95 °C (Rivero de Padua, 1983).

b. Solubilidad.

Los resultados de solubilidad de la proteína de ajonjolí en agua se describen a partir del perfil de la Figura 7, que muestra como punto mínimo el valor obtenido a pH 4, valor que se encuentra muy cercano al punto isoeléctrico de la proteína (4.9). Como se observa también, la solubilidad aumenta en gran proporción en el intervalo de pH alcalino y en menor medida por debajo del punto isoeléctrico.

En comparación a este resultado se presenta el perfil de solubilidad de la proteína de soya en la misma Figura, y en ella se observa que existe un comportamiento similar de solubilidad pero con valores más bajos.

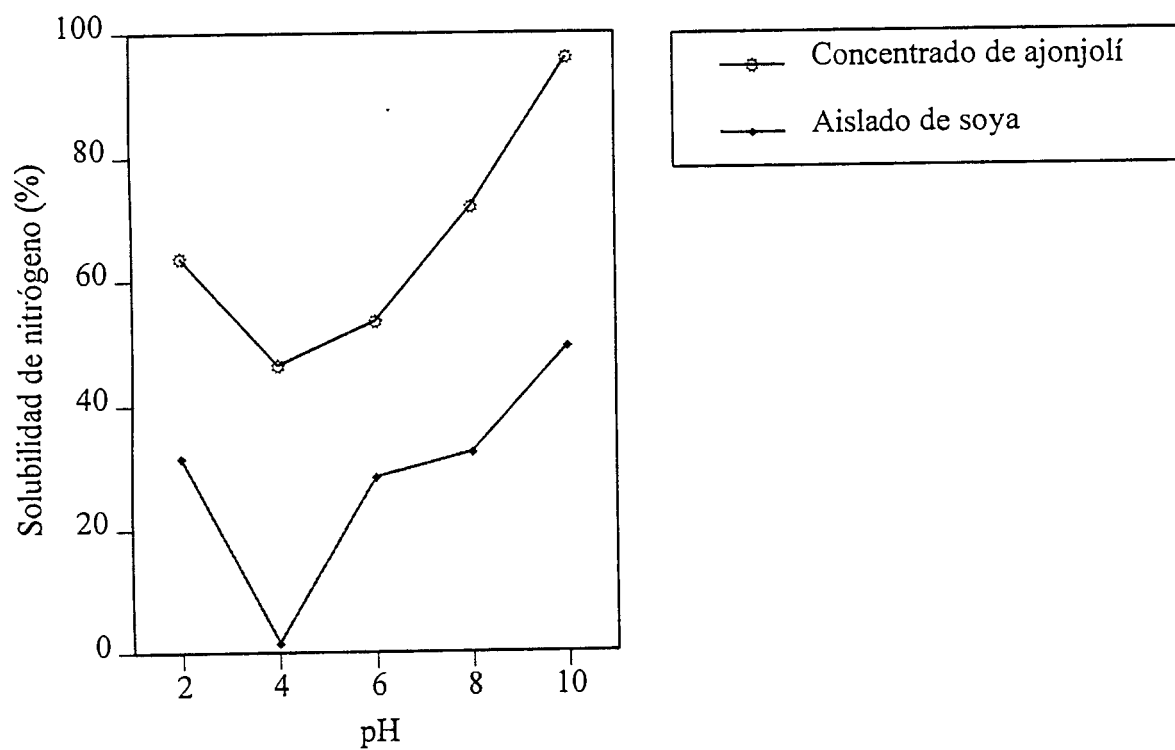


Figura 7. Perfil de solubilidad de la proteína de ajonjolí y de la proteína de soya al 1%, en función del pH a temperatura ambiente.

Este comportamiento de solubilidad también se ha obtenido con proteínas de chícharo, cacahuete, girasol, alfalfa y frijol (Wang y Kinsella, 1976; Johnson et al., 1979; Johnson y Brekke, 1983; Okezie y Bello, 1988), en donde el aumento o disminución de esta propiedad en cada una de ellas, se relaciona directamente con la naturaleza de la proteína y con los factores involucrados en su proceso de obtención como son concentración, temperatura, naturaleza del solvente y presencia de otros componentes.

Los efectos que ocasionan estos parámetros se podrían relacionar con las diferencias que existen en el perfil de solubilidad de las dos proteínas. Por otra parte, se ve un efecto inverso en cuanto a la absorción de agua, es decir, la proteína que tuvo mayor solubilidad, mostró una menor absorción de agua y viceversa.

c. Viscosidad.

La Figura 8 representa los perfiles de viscosidad de las muestras analizadas a pH neutro, observándose una marcada diferencia entre las características de viscosidad del concentrado proteínico de ajonjolí y el aislado de soya. El aumento paulatino en la concentración de aislado de soya describe un comportamiento logarítmico en la viscosidad, mismo que coincide con estudios anteriores realizados para la formulación de bebidas de soya (Yao et al., 1988).

La medición de viscosidad de la harina de ajonjolí realizada en otras investigaciones mediante este mismo método, aportó valores no significativos de esta propiedad en el intervalo de pH entre 5.5 y 8 a una temperatura de 25 °C (Rivero de Padua, 1983).

En este estudio, las Figuras 9 y 10 muestran la respuesta que se obtuvo en la viscosidad al variar el pH de las dispersiones preparadas a diferente concentración.

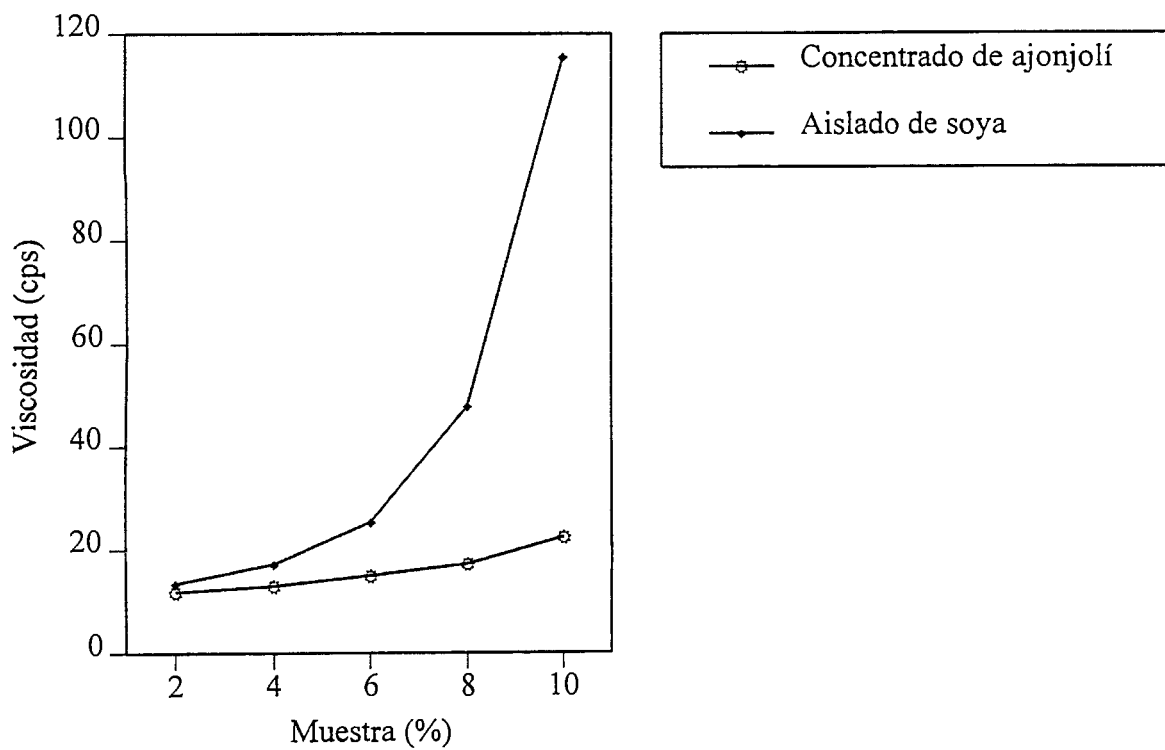


Figura 8. Perfil de viscosidad de la proteína de ajonjolí y de la proteína de soya a pH 7 y 25 °C.

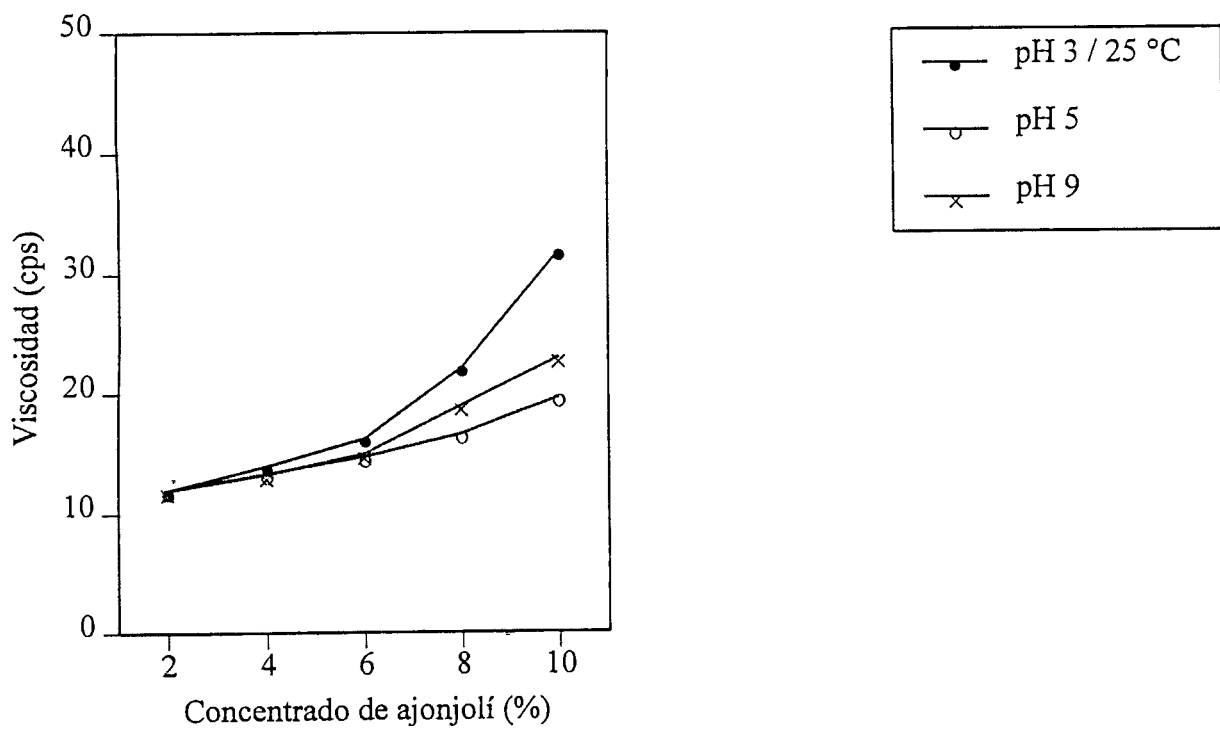


Figura 9. Perfil de viscosidad de la proteína de ajonjolí en función del pH.

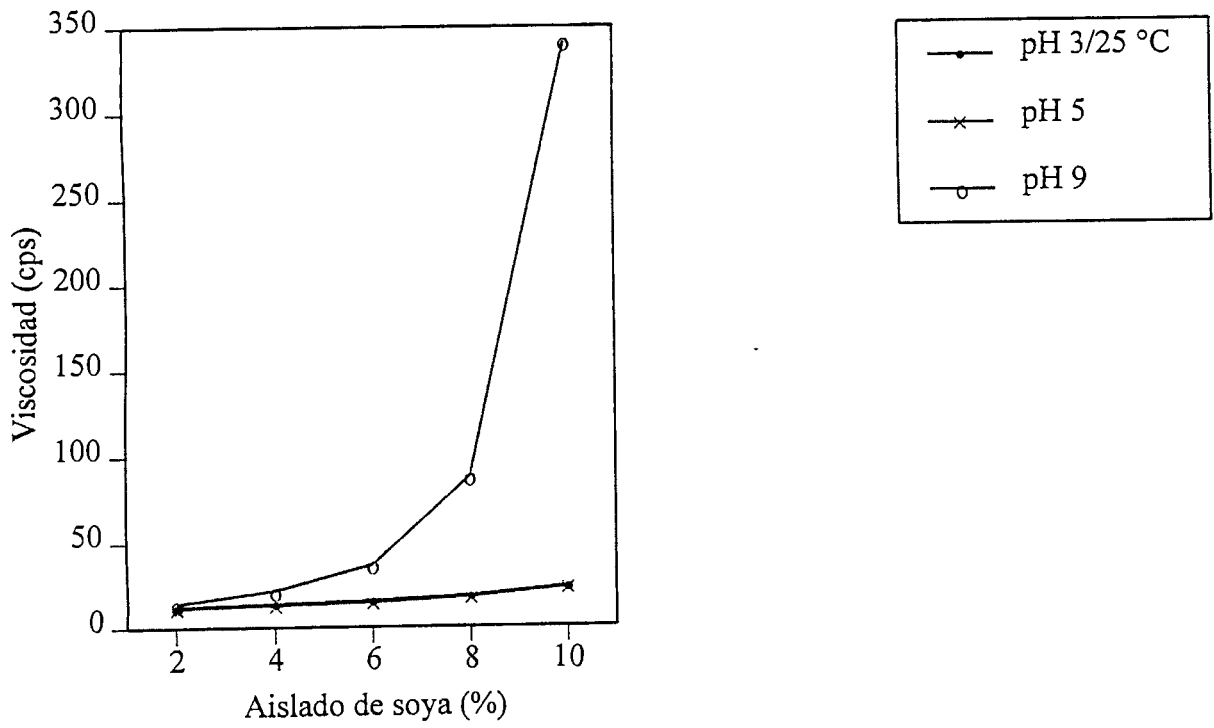


Figura 10. Perfil de viscosidad de la proteína de soya en función del pH.

En la Figura 9 aparece el comportamiento del concentrado de ajonjolí que mantiene valores por debajo de los obtenidos con el aislado de soya (Figura 10). Se observa además que la variación de pH provoca un cambio en la magnitud de la respuesta, pero no en la tendencia de la curva. Los valores inferiores que se obtienen a pH 5 se pueden correlacionar con la capacidad de solubilidad, la cual disminuye por encontrarse en un medio cercano al punto isoeléctrico. Este mismo efecto se observa para el aislado de soya en el que los valores más bajos de viscosidad se obtienen a ese pH, y la mejor viscosidad para este estudio, a pH 9.

Otra propiedad que se correlaciona directamente con la viscosidad es la absorción de agua de las proteínas, al contemplar que el fenómeno de hidratación está íntimamente ligado a las propiedades reológicas. Es tal vez por este motivo que para el aislado de soya se esperaría una mejor viscosidad al haberse obtenido una mayor absorción de agua.

d. Actividad y estabilidad emulsificante.

Los resultados obtenidos de estos análisis se representan mediante gráficas de superficie de respuesta en las que se observa el efecto de cada factor sobre la variable de respuesta. Los niveles de cada factor son: pH: 5, 7, 9; proteína (% p/v): 3, 5, 7 y aceite (% v/v): 10, 30, 50. Las gráficas a y b de la Figura 11 muestran el efecto que tuvo la variación de pH y la concentración de proteína sobre la actividad de emulsión.

Los valores de respuesta mayores se obtuvieron con la proteína de soya (b); sin embargo, en el nivel alto de la concentración de proteína de ajonjolí (a) se observa que una variación en el pH, no altera significativamente los valores de la actividad de emulsión, lo cual supone que esta proteína a esa concentración actúa independientemente del pH, siendo una ventaja al poder aplicarla en diversos alimentos. En su caso, el aislado comercial de soya

(b), muestra valores mínimos de actividad de emulsión a cualquier concentración de proteína en el pH más bajo, efecto que ocurre sólo a pH bajo y concentración baja para la proteína de ajonjolí. En los dos casos la actividad de emulsión tiene sus máximos a pH cercano a 9.

La estabilidad de emulsión considerando una variación en el pH y en la concentración de proteína, aparece en las gráficas c y d de la Figura 11. Para el concentrado de ajonjolí (c) se observa la máxima estabilidad en los niveles bajos de pH y concentración de proteína, esta propiedad disminuye a pH 7 y aumenta nuevamente a pH 9, pero en menor magnitud.

El aislado comercial de soya (d) tiene un comportamiento similar en los dos casos (actividad y estabilidad de emulsión) mostrando valores inferiores de estabilidad de emulsión en comparación al concentrado de ajonjolí a nivel de pH bajo. Estos resultados se pueden atribuir a las diferencias que hay en los balances hidrofóbicos de las proteínas, así como al grado de modificación que éstas presentan contribuyendo con una mejor disponibilidad de las regiones hidrofóbicas y polares asociadas con las fases lipídica y acuosa respectivamente.

La actividad de emulsión involucra otro factor que es la cantidad de aceite y en las gráficas a y b de la Figura 12 se muestran los efectos de este componente y la concentración de la proteína sobre la respuesta. Para la proteína de ajonjolí (a) se registraron valores más altos y la tendencia registrada fue muy parecida a la de la proteína de soya (b) en donde los máximos aparecen a mayor concentración de aceite y en cualquier concentración de proteína.

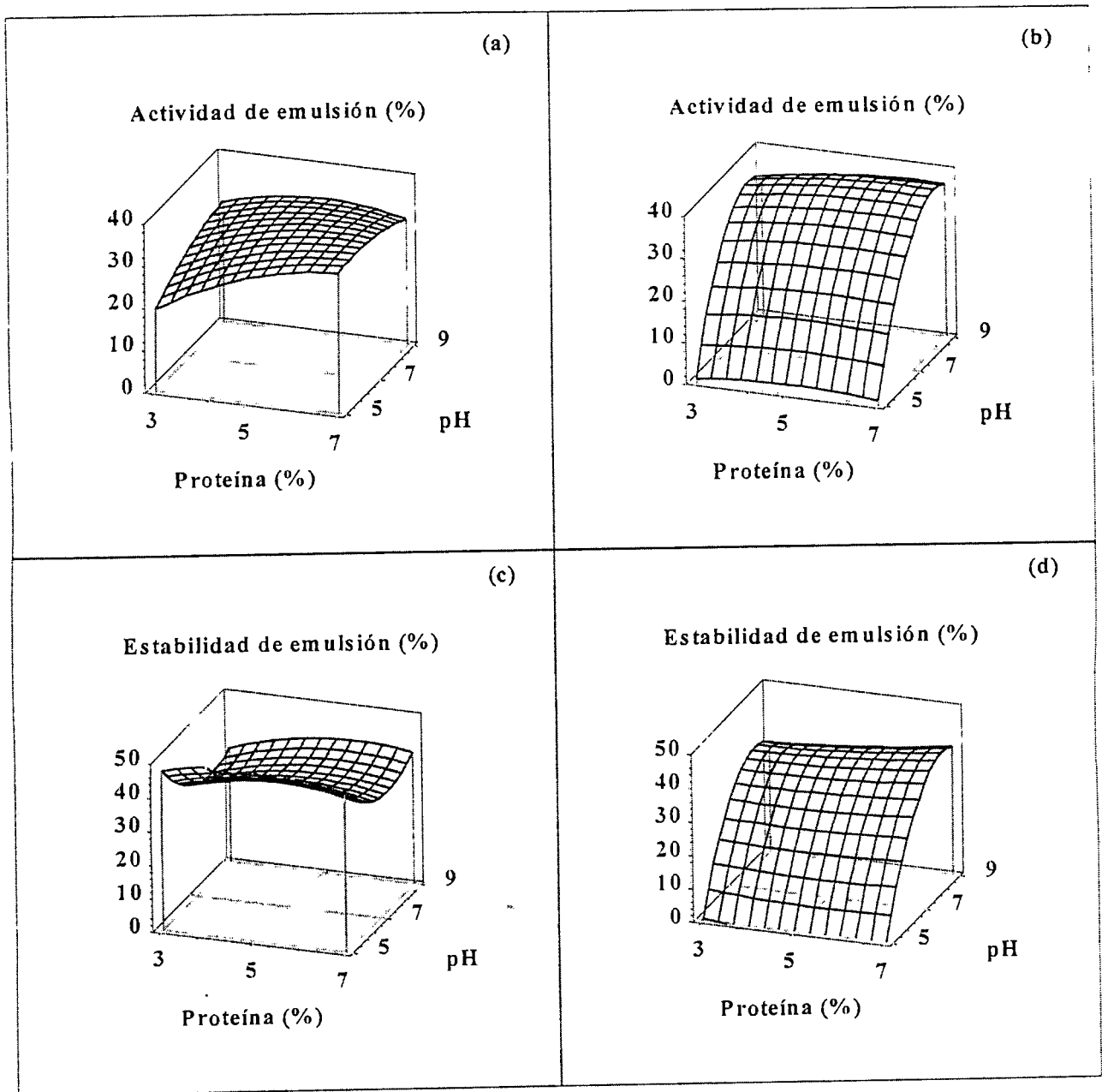


Figura 11. Actividad y estabilidad de emulsión del concentrado de ajonjolí (a y c) y del aislado de soya (b y d) en función de la concentración de proteína y del pH.

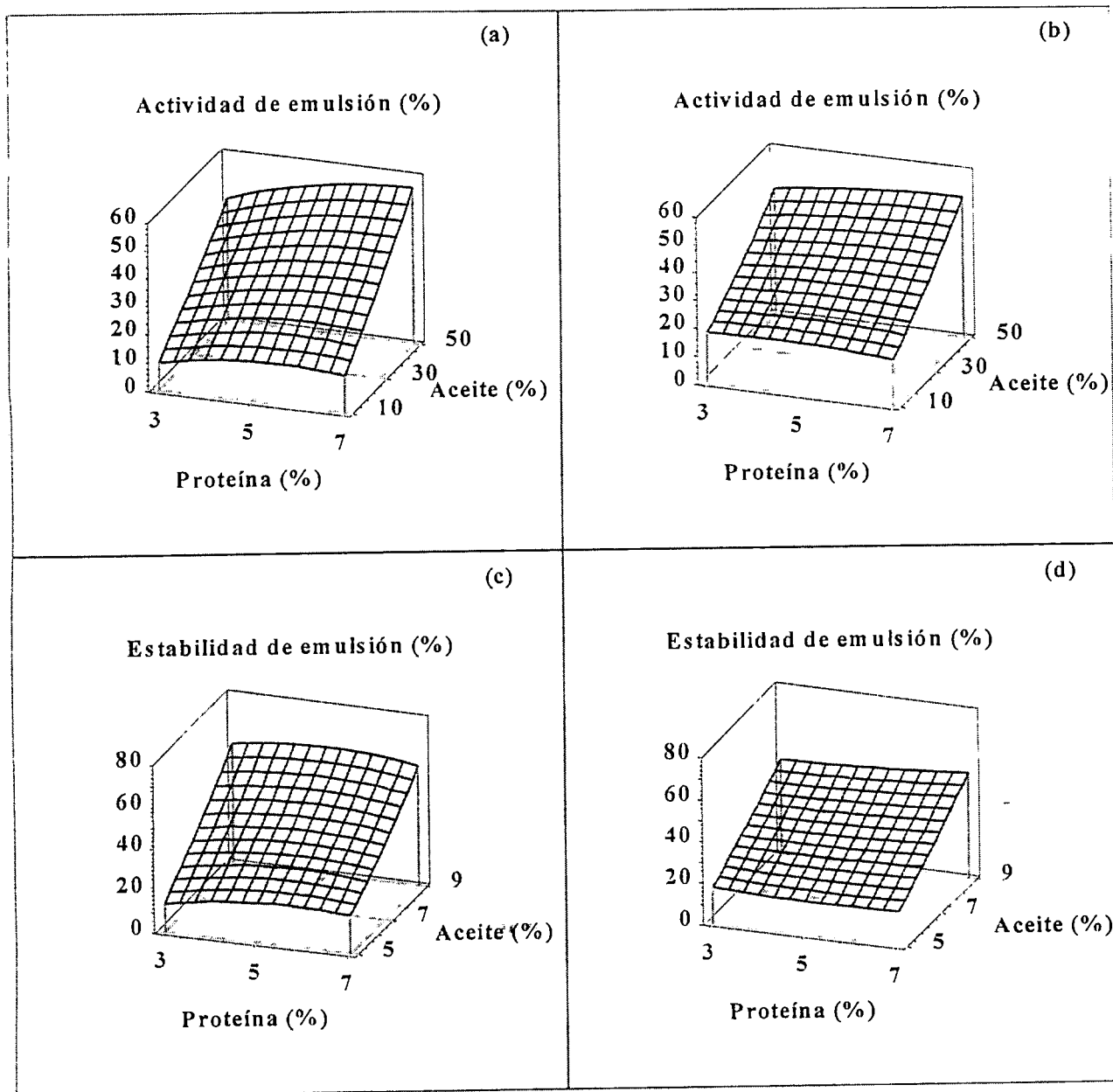


Figura 12. Actividad y estabilidad de emulsión del concentrado de ajonjolí (a y c) y del aislado de soya (b y d) en función de la concentración de proteína y de la concentración de aceite.

La estabilidad de emulsión de las Figuras c y d muestra valores máximos a mayor cantidad de aceite resaltando valores superiores de esta propiedad para la proteína de ajonjolí, indicando también (como en el análisis calorimétrico) una buena estabilidad térmica, ya que en esta prueba se le sometió a una temperatura de 80 °C.

Finalmente para la prueba de emulsión se analizó el efecto del pH y la concentración de aceite sobre la variable de respuesta. En las gráficas a, b, c y d de la Figura 13 aparece este comportamiento. Para la proteína de soya (b) se observa que la actividad de emulsión alcanzó valores mayores en comparación a la proteína de ajonjolí (a); no obstante, esta cualidad que presenta la proteína de soya, es pobre a cualquier concentración de aceite en el nivel más bajo de pH (5) y sólo obtiene un valor máximo a pH alto (9) y concentración de aceite alta (50%). Una vez más se aprecia cierta ventaja de la proteína de ajonjolí (a), ya que a la concentración más alta de aceite, se observan valores superiores de la actividad de emulsión a cualquier valor de pH.

En cuanto a la estabilidad de emulsión, se registraron comportamientos muy parecidos a los de actividad de emulsión analizando el pH y la concentración de aceite. Para este caso, la proteína de ajonjolí presenta valores superiores que el estándar, lo cual se atribuye a su estabilidad térmica estimada mediante el análisis de calorimetría diferencial de barrido.

La comparación entre la proteína de ajonjolí y la de soya bajo las condiciones de este estudio, permite asignar una mayor estabilidad de emulsificación a la proteína de ajonjolí, obteniéndose además una respuesta interesante de la actividad de emulsión que resalta las diferencias que estas proteínas presentan debido entre otras causas, al método de obtención y a las propiedades nativas de cada una, las que favorecen su empleo en alimentos.

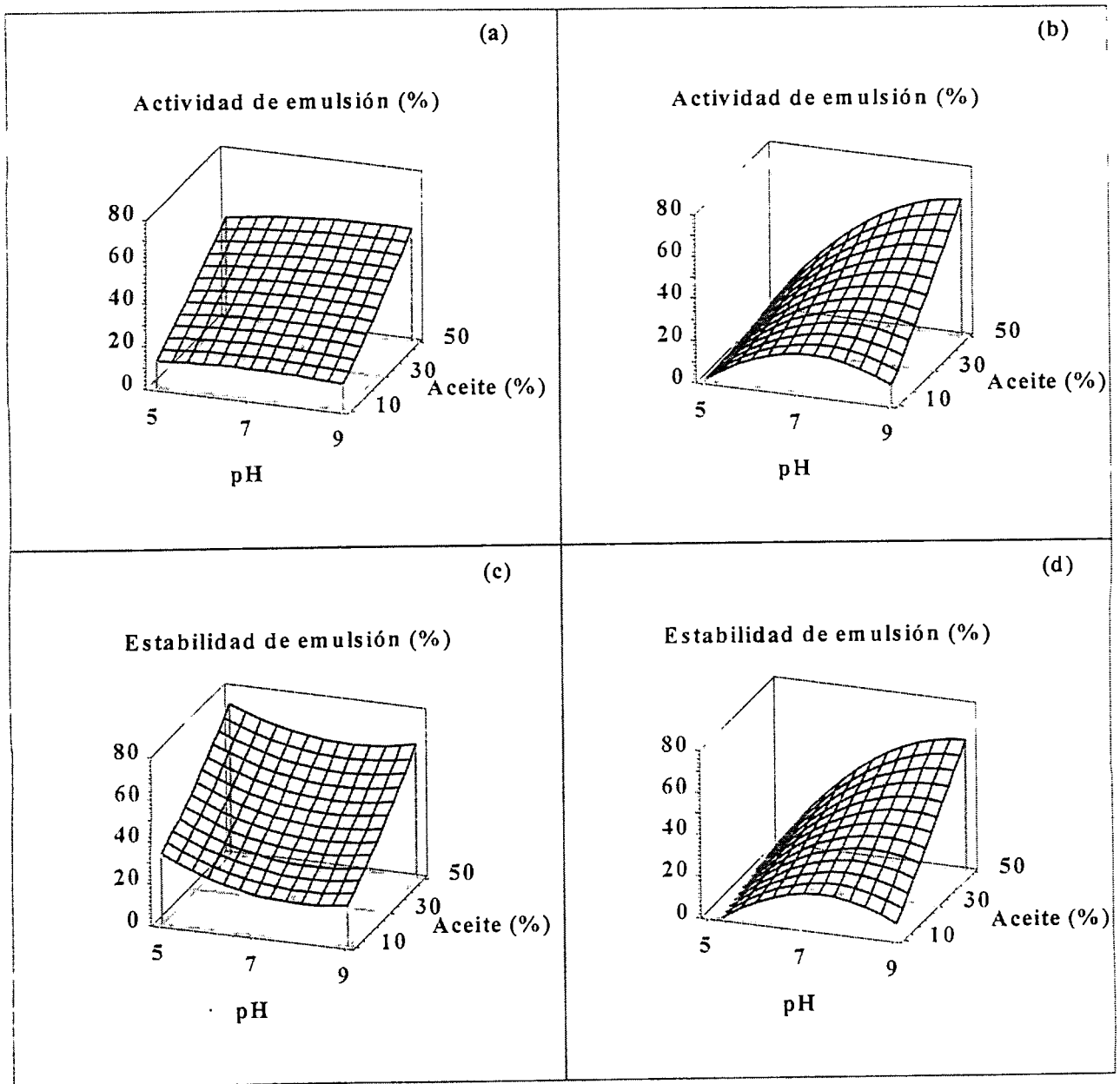


Figura 13. Actividad y estabilidad de emulsión del concentrado de ajonjolí (a y c) y del aislado de soja (b y d) en función del pH y de la concentración de aceite.

e. Capacidad y estabilidad de la espuma formada.

Las propiedades de espumado de un sistema proteínico varían dependiendo de la concentración de proteína y del pH del medio entre otros factores. Los resultados correspondientes a este análisis se describen asimismo mediante gráficas de superficie de respuesta (Figura 14). En ellas se aprecia claramente la mayor capacidad de espumado que presenta la proteína de ajonjolí bajo los niveles de pH y concentración empleados, al compararse con la muestra de referencia. Este resultado coincide con los datos reportados por Dench y col. (1981). A diferencia del aislado de comercial de soya (Figura 14b), la proteína de ajonjolí (Figura 14a) muestra datos superiores en esta propiedad, y sus máximos se localizan en todo el intervalo de pH y concentración de proteína alta, contrariamente a la capacidad de formación de espuma de la proteína de soya, la cual presenta su máximo en el nivel bajo de pH y concentración de proteína; este efecto se puede deber a una diferencia en el balance de aminoácidos ácido-base que cada proteína mantiene en su estructura. La estabilidad de espuma, por su parte, depende normalmente de la interacción proteína-proteína y de la interacción proteína-agua. El cambio en la capacidad de espumado se debe al aumento en la desnaturalización superficial y/o a la alteración de las interacciones proteína-proteína debidas a diferencias en el ambiente iónico (Dench y col., 1981).

Como resultado en la estabilidad de espuma de la proteína de ajonjolí (Figura 14c), los puntos máximos se obtuvieron en el nivel de pH y concentración de proteína más bajos, coincidiendo con los valores reportados por Inyang y Nwadinmka (1992) para harina de ajonjolí descascarillada. La máxima estabilidad de espuma en el rango de pH ácido se relaciona con la formación de capas moleculares estables en la interfase aire-agua, las cuales imparten estabilidad y elasticidad a la espuma (Canella y col., 1979).

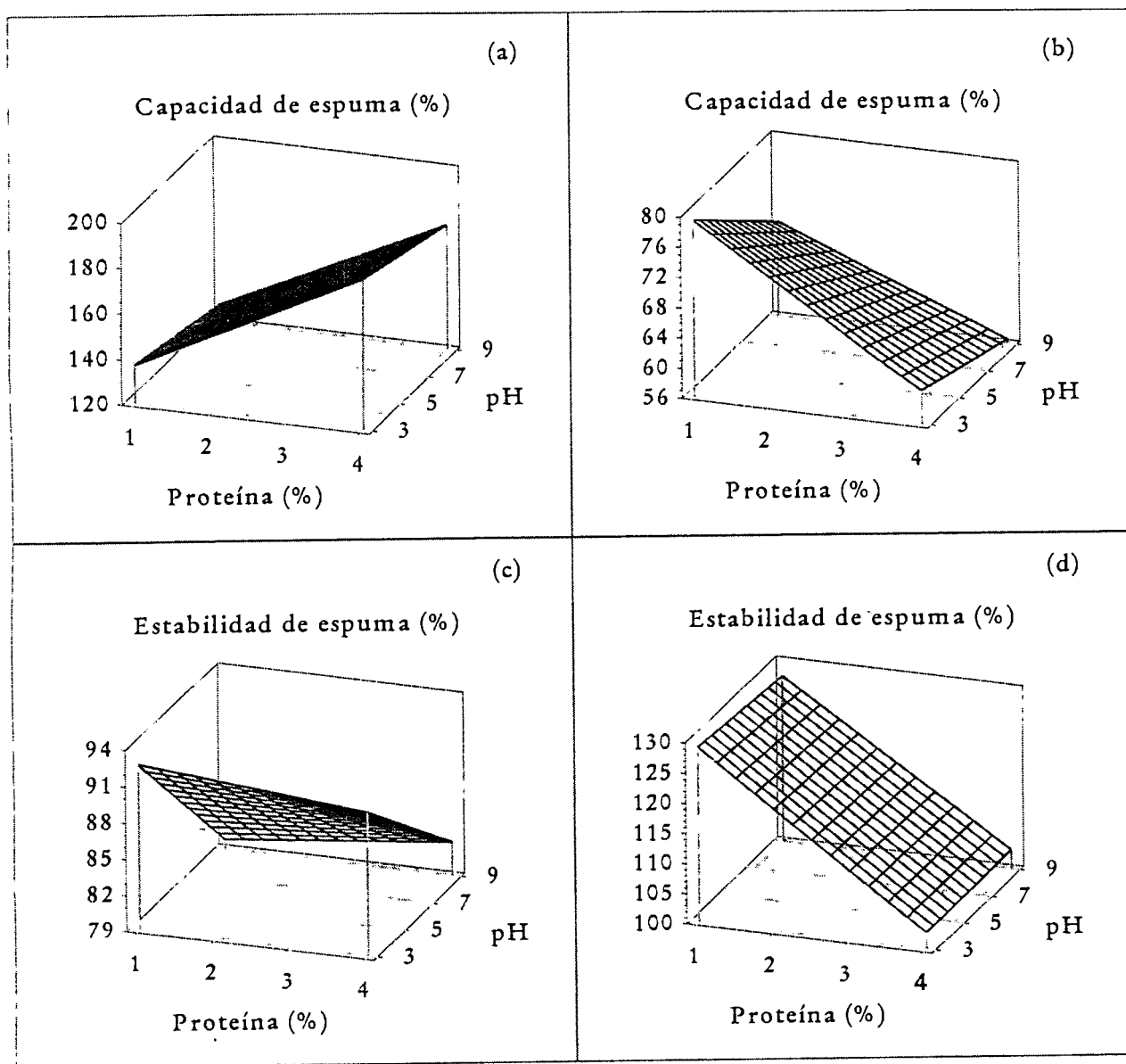


Figura 14. Capacidad y estabilidad de espuma del concentrado de ajonjolí (a y c) y del aislado de soya (b y d) en función del pH y de la concentración de proteína.

La comparación de resultados muestra una menor estabilidad de espuma para la proteína de ajonjolí originada tal vez por su baja capacidad para mantener la interacción con el agua a causa de su alta hidrofobicidad. No obstante, con las características de espumado que presenta el concentrado proteínico de ajonjolí, éste puede ser de amplia utilidad en productos como helados, malteadas y en una diversidad de postres que requieran resaltar esta propiedad, considerando el intervalo de pH en que se presenta la buena capacidad de formación de espuma.

6. Compuestos antinutricionales.

La Tabla 17 muestra los resultados que se obtuvieron en la determinación de compuestos antinutricionales en las muestras de ajonjolí.

a. Inhibidores de tripsina.

Considerando el principio de la técnica que se utilizó, en la que el color de la reacción indica de forma indirecta la concentración del inhibidor, el resultado se cataloga como negativo. Los datos numéricos que se obtuvieron a partir de varias diluciones, revelaron una mayor absorbancia en los tubos con muestra, y de esta forma el cálculo del porcentaje de inhibición se limitó. Por lo anterior y de acuerdo a los resultados, se podría pensar que tal vez la técnica no fue la adecuada para el análisis del ajonjolí o que quizá otros componentes contribuyeron a la formación de color, lo cual propició el enmascaramiento de la reacción de inhibición en caso de que ésta se llevara a cabo.

No obstante, datos reportados por Rastogi y Krishna-Murthy (1962) revelaron la ausencia de este inhibidor en una muestra de harina desengrasada de ajonjolí.

Tabla 17. Compuestos antinutricionales en muestras de ajonjolí.

Factor	Harina desengrasada de ajonjolí	Concentrado proteínico de ajonjolí
Inhibidores de tripsina	Negativo	Negativo
Hemaglutininas	Negativo	Negativo
Acido fítico (%)	1.91 ± 0.03	1.09 ± 0.05

b. Hemaglutininas.

Las muestras de ajonjolí analizadas carecieron de actividad aglutinante sobre los tipos de sangre humana analizados (A y O "RH +") de acuerdo a la técnica que se empleó.

Este factor antinutricional por sus características, se considera como limitante en el consumo de ciertos alimentos de origen vegetal, ya que sus efectos ocasionan graves trastornos en la salud de quien los consume. La ausencia de estos compuestos en el ajonjolí eleva aún más la calidad de esta semilla y con lo cual se da confianza a su consumo y aprovechamiento.

c. Acido fítico.

El ácido fítico como factor antinutricional, es otro de los componentes que caracterizan al ajonjolí, pero que al igual que el ácido oxálico, su reducción se lleva a cabo durante las etapas de extracción de la proteína. En los resultados obtenidos se observó una disminución de casi el 50 % de este compuesto una vez obtenido el concentrado de proteína. Reportes anteriores, indican un contenido de ácido fítico del 5 % en harina desengrasada de ajonjolí, comparado con el de harina de soya, que es del 1.5 % (De Boland y col., 1975).

La reducción de este compuesto mejora la calidad de los concentrados proteínicos al no intervenir en la biodisponibilidad del zinc, calcio, magnesio y hierro, así como en la formación de complejos con proteínas, lo que disminuye su solubilidad y aprovechamiento.

7. Detección de metales pesados.

El análisis por absorción atómica para determinar la presencia de elementos como calcio, plomo, arsénico, selenio y mercurio, indicó la ausencia de la mayoría excepto la del calcio, el

cual se reduce en la etapa de extracción de la proteína, ya que en el concentrado se detectaron 46 ppm en comparación a la harina desengrasada y al aislado de soya que tuvieron 53 y 55 ppm respectivamente (Tabla 18).

Es importante tener en cuenta la presencia o ausencia de metales como estos, los cuales se pueden adquirir a través del procesamiento, o bien, pueden formar parte del material integral, ya que siendo de origen vegetal, el medio ambiente o las zonas en que se produzcan, pueden estar contaminadas por estos metales y ser el foco de contaminación para este y otros cultivos. El ajonjolí por su naturaleza, tiene cantidades considerables de calcio y dependiendo del área en que se cultive, éste puede adquirir contenidos de selenio, el cual muestra sus efectos nocivos a niveles elevados.

8. Evaluación microbiológica.

El análisis que se aplica a los alimentos con el fin de detectar posibles contaminaciones por microorganismos, es de gran interés debido a que éstas son un factor de riesgo que podrían limitar el empleo de los mismos. En este estudio se obtuvieron los resultados que aparecen en la Tabla 19 indicando la calidad microbiológica de las dos muestras de ajonjolí y del aislado de soya.

Los datos muestran la ausencia de coliformes que son considerados como indicativos de una contaminación por materia fecal, la que podría ser originada por el agua utilizada o bien por una falta de higiene durante el proceso. Asimismo los resultados permiten comparar la incidencia de otros microorganismos en este tipo de productos.

Tabla 18. Presencia de metales pesados en las muestras de ajonjolí y en el aislado de soya.

Elemento (ppm)	Harina desengrasada de ajonjolí	Concentrado proteínico de ajonjolí	Aislado proteínico de soya
Calcio	53	46	55
Plomo	ND	ND	ND
Arsénico	ND	ND	ND
Mercurio	ND	ND	ND
Selenio	ND	ND	ND

ND = No detectable

Tabla 19. Calidad microbiológica de las muestras de ajonjolí y del aislado de soya.

Prueba	Harina desengrasada de ajonjolí	Concentrado proteínico de ajonjolí	Aislado proteínico de soya
Cuenta estándar total	20×10^3 ufc/g	90×10^3 ufc/g	45×10^3 ufc/g
Hongos	1×10^3 ufc/g	ausentes/g	ausentes/g
Levaduras	ausentes/g	1×10^3 ufc/g	5×10^3 ufc/g
Coliformes	ausentes/g	ausentes/g	ausentes/g

ufc = unidades formadoras de colonias

26 76

9. Elaboración de yogurt.

El producto que se obtuvo fue un yogurt del tipo filante (características del cultivo), de buena consistencia y con una buena incorporación de los ingredientes. Después de una semana en refrigeración (5 °C), las características sensoriales del yogurt no cambiaron apreciablemente.

10. Análisis sensorial.

Mediante una evaluación preliminar se hizo la selección de dos muestras de yogurt a partir de los nueve ensayos generados a través del diseño ortogonal $L_9(3^4)$, con el fin de reducir el número de muestras a evaluar por los jueces. Las muestras seleccionadas fueron la #4 (12 % de leche en polvo, 5% de azúcar) y la #7 (13 % de leche en polvo, 6.5 % de azúcar) que presentaban un contenido adicional de 0.5 % de proteína de ajonjolí. Esta adición de proteína fue con el propósito de aumentar aún más el valor nutricional del yogurt con una fuente rica en aminoácidos esenciales y para determinar el efecto de la proteína sobre las características sensoriales del yogurt.

Las muestras de yogurt seleccionadas se presentaron ante cien jueces-afectivos (consumidores), quienes calificaron los atributos de cada una e hicieron la respectiva comparación. La prueba comparativa se basó en la siguientes hipótesis:

$$H_0: \mu_1 = \mu_2$$

$$H_1: \mu_1 \neq \mu_2$$

Se aplicó la prueba t student con un nivel de significancia de 0.05 como criterio para aceptar o rechazar la hipótesis nula, en la que se iguala el valor de las medias de los datos obtenidos para cada muestra. La hipótesis nula se rechazó cuando el valor absoluto de t fue

mayor que su valor teórico. En la Tabla 20 se indican los resultados estadísticos, así como la conclusión a cerca de la hipótesis en cada atributo. El valor teórico de t fue de 1.96 según el valor de significancia y los grados de libertad.

De acuerdo a la prueba de comparación si la hipótesis nula se rechaza, entonces se acepta la hipótesis alternativa y en consecuencia se dictamina que existe diferencia entre las muestras para el atributo analizado. Según los resultados obtenidos, la apariencia y el nivel de acidez del yogurt fueron muy similares de acuerdo a la percepción de los jueces. En los demás atributos se percibió una diferencia entre las dos muestras, lo cual concuerda con la variación que se manejó en la formulación de éstas, ya que una de ellas tenía mayor dulzor (#7). Esta diferencia en el contenido de azúcar originó una mayor preferencia por la muestra #7, lo cual tal vez provocó un enmascaramiento del sabor del concentrado en caso de que éste se percibiera.

Cabe resaltar que la aceptación del producto por parte de los jueces fue generalizada y no se manifestaron expresiones de desagrado por el hecho de contener el componente adicional. Sin embargo, se tiene en consideración que en este análisis faltó incluir una muestra de referencia que no contuviera el concentrado proteínico.

Por otra parte la frecuencia de consumo fue en orden descendente como sigue: una vez al día, dos veces por semana, menos de una vez por semana, una vez por semana y varias veces al día. La mayoría de la población encuestada fueron individuos del sexo femenino y la edad más frecuente estuvo entre 21 y 29 años. En estudios como este en los que se pretende desarrollar un nuevo producto, se necesita llegar al gusto de cada consumidor reuniendo una serie de requisitos y entre los principales que el nuevo producto tenga un buen sabor.

Tabla 20. Resultados estadísticos del análisis sensorial de yogurt.

Atributo	t student ^a	Ho
Apariencia	1.53	Se acepta
Dulzura	6.28	Se rechaza
Acidez	3.16	Se rechaza
Textura	2.43	Se rechaza
Nivel de dulzura	5.46	Se rechaza
Nivel de acidez	1.50	Se acepta
Nivel de espesura	2.60	Se rechaza
Agrado total	6.38	Se rechaza

^a valor absoluto

Ho = hipótesis nula

De acuerdo a los resultados obtenidos, la proteína de ajonjolí se caracteriza por una buena estabilidad térmica según el intervalo de temperaturas de desnaturalización que presentó (108 - 124.5 °C). El secado por aspersión fue el que originó una mayor desnaturalización en la proteína conforme a los datos de entalpía, y las condiciones más convenientes para obtener la proteína de ajonjolí en base al grado de desnaturalización y a la economía del proceso, fueron: extracción a pH 9 y secado por aspersión del extracto sin neutralizar. De acuerdo al procedimiento de extracción de la proteína, se obtuvo un concentrado proteínico con el 51.5 % de proteína.

En el plano nutricional la proteína de ajonjolí se caracterizó con una digestibilidad *in vitro* del 80 %, la cual se consideró aceptable al compararse con la del aislado de soya que fue del 87 %. Asimismo, el valor de lisina disponible en la proteína, sugiere que el método de extracción probablemente no propició pérdida significativa de dicho aminoácido.

Por otra parte, la cantidad de lisina disponible en la proteína de soya podría servir como complemento para la proteína de ajonjolí, a través de un efecto sinergista para la producción de aislados altamente nutritivos.

En cuanto a las características físico-funcionales el pH, la densidad y el poder calórico del concentrado proteínico de ajonjolí fueron similares a las de algunos aislados proteínicos reportados ya en la literatura. La proteína de ajonjolí posee un carácter hidrófobo que le da afinidad por los grupos lipídicos, obteniéndose buena capacidad de absorción de aceite. La absorción de agua en esta proteína es pobre comparada con la proteína de soya. El poder gelificante no se presentó en esta proteína a ninguna concentración y en ningún valor de pH

(5 - 11). Asimismo la viscosidad de las soluciones con proteína de ajonjolí fue muy pobre comparada con la elevada viscosidad que presentó el aislado de soya.

En las condiciones que se encuentra la proteína de ajonjolí, ésta presentó una mejor solubilidad comparada con la proteína de soya. Su actividad de emulsión y su capacidad para formar espuma, fueron bastante buenas comparadas también con las del aislado de soya. La estabilidad de emulsión de la proteína de ajonjolí fue buena, sin embargo, la estabilidad de espuma fue menor que la del aislado de soya. Según las características funcionales de la proteína de ajonjolí y la proteína de soya, éstas podrían emplearse conjuntamente para elevar la funcionalidad que tienen por separado.

Mediante la determinación de factores antinutricionales no se detectó la presencia de inhibidores de tripsina y hemaglutininas en las muestras de ajonjolí. El porcentaje de ácido fítico presente en la harina desengrasada de ajonjolí se redujo a través del proceso de extracción de la proteína. Por otra parte y de acuerdo al método empleado, en las muestras de ajonjolí y soya no se detectaron metales pesados que pudieran limitar su empleo; además, la calidad microbiológica de las muestras analizadas indicó la sanidad del proceso en la obtención de la proteína, la cual dependerá de los métodos y del lugar en que se lleve a cabo dicho proceso.

Finalmente, las características sensoriales del yogurt adicionado con el concentrado proteínico de ajonjolí, no se vieron alteradas con respecto al yogurt no adicionado, y se obtuvo una aceptación generalizada por parte de los jueces, lo cual es un indicio de éxito para la aplicación de la proteína en otros productos alimenticios. Por consecuencia y de acuerdo al estudio, la proteína de ajonjolí tiene buenas expectativas de uso como aditivo en alimentos, o bien, de aprovechamiento como complemento nutricional.

A partir de los resultados obtenidos se establece un buen panorama de aprovechamiento para la proteína de ajonjolí. Sin embargo, se sugiere aplicar la tecnología de alimentos en la elaboración de otro tipo de productos como los de panificación, cárnicos y postres, a los que se adicione la proteína y se puedan determinar las formas de sustitución de otras proteínas de mayor precio. Asimismo, se podrían llevar a cabo pruebas para determinar el efecto sinergista que posee la proteína de ajonjolí con proteínas como las de trigo y soya, y aprovechar conjuntamente sus propiedades. Por otro lado, sería conveniente profundizar en el análisis de la proteína de ajonjolí por calorimetría diferencial de barrido, ya que dicha información contribuirá para ampliar el conocimiento de la estructura de tan importante proteína.

- Adams, G., Marin, S. y Milner, J. 1980. Effects of selenium on the Salmonella/microsome mutagen test system. Fed. Proc. 39:790.
- Adolph, W.H. y Lin, I. 1936. Industr. Eng. Chem. 28:734. [Citado por Prakash, 1986.]
- Albanese, A.A., Lorenze, E.J., Edelson, A.H., Tarlow, A., Wein, E.H. y Carroll, L. 1986. Effects of dietary calcium: phosphorus ratios on utilization of dietary calcium for bone synthesis in woman 20-75 years of age. J. Nutr. 33:879.
- AOAC, 1990. *Official Methods of Analysis*, 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC.
- Arthur, J.C. y Volkert, E.C. 1950. J. South Res. 2:5. [Citado por Johnson et al., 1979.]
- Badui-Dergal, S. 1987. Vitaminas. Cáp. 6. Citado en *Química de los Alimentos*, 329-375. Alhambra Mexicana, México.
- Basu, U.P. y Sen Gupta, S.K. 1947. Protein from sesame oilcake. Indian. J. Pharm. 9:60.
- Beroza, M. y Kinman, M.L. 1955. JAOCS 32:348. [Citado por Lyon, 1972.]
- Biliaderis, C.G. 1983. Differential scanning calorimetry in food research - A review. Food Chem. 10:239-265.
- Canella, M., Castriotta, G. y Bernard, A. 1979. Technol. 12:95. [Citado por Inyang y Nwadinmkpa, 1992.]
- Cano-Medina, A. 1992. Diseño de un proceso para la extracción de proteínas de ajonjolí. Tesis de licenciatura. Instituto Tecnológico de Celaya. Celaya, Gto.

- Carroll, M.D., Abraham, S. y Dresser, C.M. 1983. Dietary intake source data: United States, 1976-1980. Vital and health statistics, series II, number 231. United States Government Printing Office. "Hanes II" Department of Health and Human Services Publication Number (PHS) 83. [Citado por Poneros-Schneier y Erdman, 1989.]
- Clark, H.E. y Woodward, L. 1966. Influence of variable quantities of methionine on nitrogen retention of adult human subjects. *Am. J. Clin. Nutr.* 18(2):100-104.
- Daghetta, A., Farini A. y Grieco, D. 1967. *Chem. Abstr.* 67:23105. [Citado por Lyon, 1972.]
- de Boland, A.R., Garner, G.B. y O'Dell, B.L. 1975. Identification and properties of "phytate" in cereal grains and oilseed products. *J. Agric. Food Chem.* 23:1186-1189.
- De Groot, A.P. y Slump, P. 1969. Effects of severe alkali treatment of proteins on amino acids composition and nutritive value. *J. Nutr.* 98:45-56.
- Dench, L., Rivas, N. y Caygill, J. 1981. Selected functional properties of sesame (*Sesamum indicum L.*) flour and two protein isolates. *J. Sci. Food Agric.* 32:557-564.
- Dey, B.B. 1951. *Current Sci.* 20:182. [Citado por Johnson et al., 1979.]
- Donovan, J.W. y Ross, K.D. 1973. Increase in the stability of avidin produced by binding of biotin. A differential scanning calorimetric study of denaturation by heat. *Biochem.* 12(3):512-517.
- Eagleson, C. 1970. U.S. patent 2,202,145, May 28. [Citado por Lyon, 1972.]
- El Tinay, A.H., Khattab, A.H. y Khidir, M.O. 1976. Protein and oil compositions of sesame seed. *JAOCS* 53:648.
- Evans, R.J. y Bandemer S.L. 1967. *Cereal Chem.* 44:417. [Citado por Lyon, 1972.]
- FAO. 1977; 1991. *Anuario de producción.* 30:129; 45:114

- Guerra, M.J. y Park, Y.J. 1975. Extraction of sesame seed protein and determination of its molecular weight by sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis. *JAOCS* 52(3):73-75.
- Guerra, M.J., Jaffé W.G. y Sangronis, E. 1984. Obtención de fracciones protéicas a partir de tortas comerciales de gergelim (*Sesamum indicum*). *Arch. Latin. de Nutr.* 34(3):477-487.
- Hermansson, A.-M. 1979. Methods of studying functional characteristics of vegetable proteins. *JAOCS* 56:272-279.
- Hsu, H.W., Vavak, D.L., Satterlee, L.D. y Miller, G.A. 1977. A multienzyme technique for estimating protein digestibility. *J. Food Sci.* 42(5):1269-1273.
- Hughes, D.A. y Bjeldanes, L.F. 1983. Influence of selenium-supplemented torula yeast diets on liver-mediated mutagenicity of aflatoxin B₁. *J. Food Sci.* 48:759-761.
- Hurrell, R.F., Lerman, P. y Carpenter, K.J. 1979. Reactive lysine in foodstuffs as measured by a rapid dye-binding procedure. *J. Food Sci.* 44:1221-1227.
- INEGI, 1993. Boletín de Información Oportuna del Sector Alimentario, No. 89.
- Inyang, U.E. y Nwadiimkpa, C.U. 1992. Functional properties of dehulled sesame (*Sesamum indicum* L.) seed flour. *JAOCS* 69(8):819-822.
- Jaffé, W. 1980. Hemagglutinins (lectins). Cap. 3. Citado en *Toxic Constituent in Plant Foodstuff*, I. E. Liener, 73-102. De. Academic Press, New York.
- Jaffé, W.G., Chávez, J.F. y Koifman, B. 1964. Estudios preliminares sobre la toxicidad de muestras de ajonjolí con alto contenido de selenio. *Arch. Latin. de Nutr.* 14:7-23.
- Jaffé, W.G. y Chávez, J.F. 1971. El posible uso de harina de ajonjolí para fines comestibles. *Arch. Latin. de Nutr.* 11:31-48.
- Johnson, E.A. y Brekke, C.J. 1983. Functional properties of acylated pea protein isolates. *J. Food Sci.* 48:722-725.

Johnson, L.A., Suleiman, T.M. y Lusas, E.W. 1979. Sesame protein: A review and prospectus. *JAOCS* 56:463-468.

Johnson, R.H. y Raymond, W.D. 1964. *Trop. Sci.* 6:173. [Citado por Johnson et al., 1979.]

Jones, D.B. y Gersdorff, C.E. 1927. *J. Biol. Chem.* 62:183. [Citado por Salem y Bekheit, 1964.]

Joseph, A.A., Tasker, P.K., Joseph K., Rao, N.N., Swaminathan, M., Sankaran, A.N., Sreenivassan, A. y Subrahmanyam, V. 1962. *Chem. Abstr.* 57:11633. [Citado por Lyon, 1972.]

Kakade, M.L. 1974. Determination of trypsin inhibitor activity of soy products. *Cereal Chem.* 51:376-382.

Kik, M.C. 1960. Effect of amino acid supplements, vitamin B₁₂, and buffalo fish on the nutritive value of proteins in sesame seed and meal. *J. Agric. Food Chem.* 8(4):327-330.

Krishna Murthy, K. Tasker, P.K., Ramankrishnam, T.N., Rajagopalan, R. y Swaminathan, M. 1960. *Ann. Biochem. Exp. Med. (Calcutta).* 20:3. [Citado por Johnson et al., 1979.]

Lawhorn, J.T., Cater, C.M. y Mattil, K.M. 1972. *Cereal Sci. Today.* 17:240. [Citado por Johnson et al., 1979.]

Lyon, C.K. 1972. Sesame: Current knowledge of composition and use. *JAOCS* 49:245-249.

Ma, C.Y. y Harwalkar, V.R. 1988. Studies of thermal denaturation of oat globulin by differential scanning calorimetry. *J. Food Sci.* 53(2):531-534.

Marshall, M.V., Arnott, M.S., Jacobs, M.M. y Griffin, A.C. 1979. Selenium effects on the carcinogenicity and metabolism of 2-acetylaminofluorene. *Cancer Lett.* 7:331.

Mekongsee, L.A. y Swatditat, A. 1974. *J. Agric. Sci.* 7:93. [Citado por Johnson et al., 1979.]

Meyer, I., 1984. Análisis Microbiológicos. Pág. 10. Citado en *Control de la calidad de productos agropecuarios*, 89-102. Ed. Trillas, México.

Montgomery, D.C. 1984. Some Other Topics Regarding Factorial and Fractional Factorial Designs. Pág. 12. Citado en *Design and analysis of experiments*, 387-438. John Wiley & Sons, Inc.

Moore, R.N. y Bickford, W.G. 1952. *Ibid.* 29:1. [Citado por Lyon, 1972.]

Moxon, A.L. y Dakota, S. 1937. *Agric. Exptl. Stat. Bull.* No. 311. [Citado por Jaffé et al., 1964.]

Murray, E.D., Arnfield, S.D. y Ismond, M.A.H. 1985. The influence of processing parameters on food protein functionality II. Factors affecting thermal properties as analyzed by differential scanning calorimetry. *Can. Inst. Food Sci. Technol.* 18(2):158-162.

Nath, R. y Giri, K.V. 1957. Physico-chemical investigations of indigenous seed proteins: part I - studies - on the solubilization of nitrogenous constituents of *Sesamum indicum* and characterization of its proteins. *J. Sci. Ind. Res. Sec. C* 16:5-8.

Nayar, N.M. y Mehra, K.L. 1975. *Econ. Bot.* 29:185. [Citado por Johnson et al., 1979.]

O'Dell, B.L. y de Bolan, A.R. 1976. Complexation of phytate with proteins and cations in corn germ and oilseed meals. *J. Agric. Food Chem.* 24:804-808.

Okezie, B.O. y Bello, A.B. 1988. Physicochemical and functional properties of winged bean flour and isolate compared with soy isolate. *J. Food Sci.* 53(2):450-454.

Okubo, K., Nishimura, N. y Shibasaki, K. 1979. Composition of sesame seed protein components and purification of the main globulin. *Cereal Chem.* 56(2):100-104.

Ordorica-Falomir, C.A. 1988. Obtención de aislados proteicos por micelización y precipitación isoeléctrica a partir de pastas de cártamo. Tesis de doctorado. CINVESTAV, Irapuato, Gto.

Perkin-Elmer, 1982. Analytical methods for atomic absorption spectrophotometry.

Poneros-Schneier, A.G. y Ermand, J.W. 1989. Bioavailability of calcium from sesame seeds, almond powder, whole wheat bread, spinach and nonfat dry milk in rats. *J. Food Sci.* 54(1):150-153.

Prakash, V. 1986. Effect of sodium chloride on the extractability of proteins from sesame seed (*Sesamum indicum* L.). *J. Agric. Food Chem.* 34(2):256-259.

Prakash, V. y Nandi, P.K. 1977. Association - dissociation and denaturation behaviour of an oligomeric seed protein α -globulin of *Sesamum indicum* L. in acid and alkaline solutions. *J. Peptide Protein Res.* 9:319-328.

Prakash, V. y Nandi, P.K. 1978. Isolation and characterization of α -globulin of sesame seed (*Sesamum indicum* L.). *J. Agric. Food Chem.* 26(2):320-323.

Preciado-Cortés, R. 1992. Cuantificación de metales pesados (Cd, Pb, As, Hg) en frijol flor de mayo y sus aguas de riego cultivado en regiones susceptibles de contaminación en el estado de Querétaro. Tesis de maestría. Univ. Autónoma. de Qro. Querétaro, Qro.

Privalov, P.L. y Khechinashvili, N.N. 1974. A thermodynamic approach to the problem of stabilization of globular protein structure: a calorimetric study. *J. Mol. Biol.* 86:665-684.

Rastogi, M.K. y Krishna Murti, C.R. 1962. A comparative study of the biological value of sesame cake, sesame protein isolate and sesame protein hydrolysate. *Annals of Biochem. and Experim. Med.* 22(3):51-56.

Regenstein, J.M. 1984. Spectroscopy. Cap. 22, Citado en *Food Protein Chemistry*, 238-247. Academic Press, Inc., Orlando, Florida.

Riedel, M.R. 1975. *Confect. Pro.* 41:246. [Citado por Johnson et al., 1979.]

Ritthausen, H. 1880. *Arch. Ges. Physiol.* 1980, 21:81. [Citado por Prakash, 1986.]

- Rivero de Padua, M. 1983. Some functional and utilization characteristics of sesame flour and proteins. *J. Food Sci.* 48:1145-1147.
- Rooney, L.W., Gustafson, C.B., Clark, S.P. y Cater, C.M. 1972. Comparison of the baking properties of several oilseed flours. *J. Food Sci.* 37:14-18.
- Saeed, M. y Cheryan, M. 1988. Sunflower protein concentrates and isolates low in polyphenols and phytate. *J. Food Sci.* 53(4):1127-1131.
- Salem, H.M. y Bekheit, M. 1964. Biochemical studies on sesame seed proteins. *Pakistan J. of Sci.* 16(3):105-112.
- Sathe, S.K., Mason, A.C. y Weaver, C.M. 1992. Some properties of a selenium-incorporating sulfur-rich protein in soybeans (*Glycine max L.*). *J. Agric. Food Chem.* 40(11):2077-2083.
- Schmidt, R.H. 1981. Gelation and coagulation. Citado en *Protein Functionality in Foods*, J.P. Cherry (De.), p. 131. ACS Symp. Ser, 147, Amer. Chem. SOC., Washington, DC.
- Schrauzer, G.N., White, D.A. y Schneider, C.J. 1977. Cancer mortality correlation studies. 4. Associations with dietary intakes and blood levels of certain trace elements, notably selenium antagonists. *Bioinorg. Chem.* 7:35.
- Shamanthaka Sastry, M.C., Subramanian, N. y Parpia, H.A.B. 1974. Effect of dehulling and heat processing on nutritional value of sesame proteins. *JAOCS* 51:115-118.
- Shamanthaka Sastry, M.C., Subramanian, N., Rajagopalan, R. 1969. Studies on the wet dehulling of sesame seed to obtain superior grade protein concentrates. *JAOCS* 46:592A-596A.
- Sinha, N.K. y Sen, A. 1962. Physico-chemical properties of crystalline globulin of sesame seeds. *Trans. Bose Res. Inst.* 25:37.
- Smith, A.K. y Rackis, J.J. 1957. *JAOCS* 79:633. [Citado por Johnson et al., 1979.]

- Smith, A.K. 1971a. Practical considerations in commercial utilization of oilseeds. JAOCS 48:38-42.
- Smith, K.J. 1971b. Nutritional framework of oilseed proteins. JAOCS 48:625-628.
- Surendranath, M.R., Lakshminarayana, T., Viswanadham, R.K. y Thirumala Rao, S.D. 1971. Trop. Sci. 13:143. [Citado por Johnson et al., 1979.]
- Tabekhia, M.M. y Mohamed, M.S. 1971. Effect of processing and cooking operations on thiamine, riboflavin and nicotinic acid content of some egyptian national foods. II Broad beans and sesame products. Alcx. J. Agr. Res. 19:285-292.
- Taha, F.S., Fahmy, M. y Sadek, M.A. 1987. Low phytate protein concentrate and isolate from sesame seed. J. Agric. Food Chem. 35(3):289-292.
- Tangendjaja, B., Buckle, K.A. y Wootton, M. 1980. Analysis of phytic acid by high-performance liquid chromatography. J. Chromatography. 197:274-277.
- Tsutsui, T. 1988. Functional properties of heat treated egg yolk low density lipoprotein. J. Food Sci. 53(4):1103-1106.
- U.N. 1974. Industrial Development Organization, Review and comparative analysis of oilseed raw materials and processes suitable for the production of protein products for human consumption. [Citado por Johnson et al., 1979.]
- Vaughan, J.G. 1970. Pedaliaceae. Citado en *The Structure and Utilization of Oil Seeds*, 200-203. Chapman y Hall, LTD.
- Villegas, A.M., González, A. y Calderón, R. 1968. Microbiological and enzymatic evaluation of sesame protein. Cereal Chem. 45(5):379-385.
- Wang, J.C. y Kinsella, J.E. 1976. Functional properties of novel proteins: alfalfa leaf protein. J. Food Sci. 41:286-292.
- Wankhede, D.B. y Tharanathan, R.N. 1976. Sesame (*Sesamum indicum*) carbohydrates. J. Agric. Food Chem. 24:655-659.

- Weiss, E.A. 1983. Sesame. Cap. 7. Citado en *Oilseed Crops*, 282-340. Longman, Inc., New York.
- Whitney, 1990. The Trace Minerals. Cap. 12. Citado en *Understanding Nutrition*, 430-431. West Publishing, St. Paul.
- Yamanishi, T., Takei, Y. y Kobayashi, A. 1968. Chem. Abstr. 68:62599. [Citado por Lyon, 1972.]
- Yao, J.J., Wei, L.S. y Steinberg, M.P. 1988. Water imbibing capacity and rheological properties of isolated soy proteins. *J. Food Sci.* 53(2):464-467.
- Yuosif, Y.H., Bingham, F.T. y Yermanos, D.M. 1972. Growth, mineral composition and seed oil of sesame as affected by NaCl. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 36:450-453. Citado en Weiss, E.A. (1983), *Oilseed Crops*, p. 318. Longman, Inc., New York.