

Estudio comparativo de diferentes métodos para evaluación del valor proteico de harinas de semilla de algodón¹

LUÍZ G. ELÍAS², SALVADOR SÁNCHEZ LOARCA³
Y RICARDO BRESSANI⁴

Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP)
Guatemala, C. A.

RESUMEN

Se obtuvieron, para estudio, muestras industriales de harinas de semilla de algodón elaboradas por los métodos de prensa de tornillo, de pre-prensa solvente y de extracción con hexano.

Las muestras fueron analizadas para determinar su composición química proximal y establecer su contenido de calcio, fósforo, hierro, gósipol libre, gósipol total, lisina disponible e índice de solubilidad de nitrógeno en hidróxido de sodio (NaOH) a la concentración de 0.02 N.

Se llevaron a cabo ensayos biológicos, en ratas Wistar, con el objeto de estudiar el valor nutritivo de los diferentes materiales utilizados para las diversas dietas, y correlacionarlos con los hallazgos químicos. Se usó como método biológico el del índice de eficiencia proteica (PER).

Una muestra de cada uno de los procesos estudiados fue sometida a extracción con NaOH 0.05 N; el extracto y el residuo correspondientes se liofilizaron y sometieron a los mismos estudios químicos y biológicos realizados con la harina entera.

- 1 Esta investigación se llevó a cabo con fondos provistos por la Fundación W. K. Kellogg, con sede en Battle Creek, Michigan, Estados Unidos de América.
- 2 Científico de la División de Ciencias Agrícolas y de Alimentos del Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá.
- 3 La presente publicación se basa en parte en el trabajo de tesis presentado por el señor Sánchez Loarca ante la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala, previo a obtener el título de Ingeniero Agrónomo. La investigación que sirvió de base a su tesis de graduación fue realizada en los laboratorios centrales del INCAP como becario de la Institución.
- 4 Jefe de la citada División.
Publicación INCAP E-409
Recibido: 21-10-1968

Los resultados obtenidos indicaron que —en comparación con las harinas elaboradas por pre-prensa solventa y sólo con solvente— las muestras del material procesado por el método de prensa de tornillo contienen más grasa y menos lisina disponible, su índice de solubilidad de nitrógeno es menor y tienen un PER más bajo.

Según los análisis estadísticos, hubo una correlación positiva entre el PER y el contenido de lisina disponible, y el PER y el índice de solubilidad de nitrógeno, así como entre la lisina disponible y la solubilidad de nitrógeno.

En lo referente a los extractos y residuos de las muestras obtenidas por los procesos de pre-prensa solventa y sólo solvente, respectivamente, los resultados indicaron que la lisina disponible y el PER seguían la misma tendencia que acusó el material del cual fueron extraídas. Sin embargo, en el caso del material preparado por el método de prensa de tornillo, el extracto tuvo un PER más bajo que el de la harina entera y el del residuo.

El contenido de gósipol libre del extracto y del residuo fue inferior al de la harina entera en todas las muestras estudiadas. Ello se explica por el pH alcalino en que fueron extraídas las proteínas.

A partir de estos hallazgos, se sugiere la conveniencia de emprender un estudio más a fondo del proceso de extracción de las proteínas de harinas de semilla de algodón, con el objeto de mejorar su rendimiento y, al mismo tiempo, determinar su posible uso como fuente adicional de proteínas.

Asimismo, dada la rapidez y economía de los métodos químicos usados en el presente estudio, se recomienda su utilización práctica para evaluar las harinas de algodón, principalmente el índice de solubilidad de nitrógeno en NaOH.

INTRODUCCION

La creciente demanda de proteínas de origen vegetal ha traído como consecuencia un desarrollo tecnológico considerable en su aplicación a la alimentación humana y de animales. Las semillas oleaginosas han ocupado siempre un lugar preponderante entre las posibles fuentes de proteína, sobre todo por razones económicas, ya que se utilizan especialmente para la extracción de aceites. Estos constituyen, por lo tanto, el principal producto, siendo la proteína un sub-producto.

Entre dichos derivados, la harina de semilla de algodón ha merecido un lugar de preferencia en ciertas regiones del mundo, debido a su amplia disponibilidad y a los múltiples usos que ha podido dárseles gracias a la investigación (1, 2). Sin embargo, para hacer factible su utilización en raciones para animales monogástricos, y principalmente para su apro-

vechamiento por los seres humanos, la harina de semilla de algodón debe satisfacer ciertos requisitos (1) que actualmente se controlan por métodos químicos y biológicos.

La composición química de la harina de semilla de algodón varía de acuerdo con el proceso a que la semilla se somete para la extracción del aceite, y según la variedad usada. Cuando se trata de consumo humano, únicamente es adecuada si satisface los requisitos siguientes: debe contener un mínimo de 50% de proteína; no más de 1.2 g% de gósipol total y 0.06 g% de gósipol libre; no menos de 3.6 g de lisina por 16 g de nitrógeno (3) y la solubilidad de su nitrógeno en NaOH 0.02N no debe ser menor de 70%. Para medir estos parámetros, desde el punto de vista práctico, es evidente la necesidad de aplicar una metodología más rápida y más económica que pueda ser usada en laboratorios privados o de plantas industriales. La importancia de este hecho se basa en las ventajas que implica la disponibilidad de métodos que permitan predecir con bastante seguridad —desde el ángulo químico— el valor nutritivo del producto antes de emprender pruebas biológicas que, en general, son más costosas.

En consideración a lo expuesto, el objetivo del presente trabajo fue estudiar las relaciones que pueden existir entre los diferentes métodos disponibles para el control de calidad de la harina de semilla de algodón, a fin de poder recomendar aquellos de más práctica aplicación. El estudio destaca también la importancia que debe darse a los métodos de procesamiento teniendo en cuenta su efecto sobre el valor nutritivo de las proteínas del algodón.

MATERIALES Y METODOS

A. Muestras

Las harinas de algodón se obtuvieron de diversas plantas de procesamiento de semilla de algodón existentes en Centro América. En el presente estudio se trató de utilizar muestras de harinas preparadas por diferentes procesos como son el de prensa, el de pre-prensa solventa y el que se realiza directamente por solvente. Las muestras obtenidas fueron almacenadas en un cuarto refrigerado a la temperatura de 4°C hasta el momento de practicar los análisis químicos respectivos y las pruebas biológicas.

B. Análisis Químicos

Las determinaciones de proteína, grasa, humedad, fibra cruda y calcio se hicieron según los métodos de la AOAC (4) y el contenido de fósforo fue determinado por el procedimiento de Fiske y Subbarow (5). La cantidad de hierro se estimó por el método de Moss y Mellon (6).

Para los análisis de gopisol libre y total se aplicaron las técnicas de la AOCS (7). El contenido de lisina disponible se determinó por el método de Conkerton y Frampton (8), y la solubilidad de nitrógeno según el procedimiento de Lyman *et al.* (9).

C. Ensayos Biológicos

El valor nutritivo de las diferentes harinas fue evaluado por el método establecido por la AOAC (4) para determinar el índice de eficiencia proteica ("Protein Efficiency Ratio" = PER).

Se utilizaron, para estas pruebas, ratas blancas de la raza Wistar de la colonia del INCAP. Los animales fueron alojados en jaulas individuales con fondos levantados de tela metálica, y recibieron como alimentación las dietas descritas en el Cuadro N° 1. Las harinas de algodón y los otros productos a ser estudiados se incorporaron en la dieta en cantidades equivalentes a 10% de proteína. El alimento y el agua fueron ofrecidos *ad libitum*, y semanalmente se registró el consumo de alimento y el aumento de peso de los animales con el objeto de calcular el índice de eficiencia proteica. Para cada dieta experimental se usaron 4 ratas hembras y 4 ratas machos, siendo la duración de cada ensayo de 28 días. Todas las dietas fueron analizadas para determinar su contenido de nitrógeno, usando el método de la AOAC (4).

D. Extracción de las Proteínas

Con el propósito de estudiar el valor nutritivo de las proteínas solubles en hidróxido de sodio (NaOH) y determinar así el valor del índice de solubilidad como parámetro del valor proteico, se escogieron tres harinas de semilla de algodón producidas por tres procesos diferentes. Una de las harinas fue preparada por el método de prensa, otra por medio del proceso pre-prensa solvente, y la última por el procedimiento de extracción con hexano. De cada una de las muestras se pe-

CUADRO N° 1

COMPOSICION DE LAS DIETAS UTILIZADAS EN LOS ENSAYOS BIOLOGICOS EN RATAS

Ingredientes	Identificación de las harinas de algodón													
	1-E	4-C	5-L	6-I	8-A	11-L	12-L	13-I	3-A	7-B	9-P	14-B	10-D	15-D
Harina de algodón bajo prueba	22.75	26.81	23.30	23.84	32.35	24.80	26.81	31.72	20.60	20.00	24.40	24.81	27.00	26.53
Minerales ¹	4.00	4.00	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.00	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0
Aceite de semilla de algodón	5.00	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
Aceite de hígado de bacalao ²	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Almidón de maíz	67.25	53.19	66.70	66.16	57.65	65.20	63.19	58.28	69.40	70.00	65.60	61.59	63.00	63.47
Total	100.0													
Solución de vitaminas ³ ml	5	5	5	5	5	5	4	5	5	5	5	5	5	5

1 Mezcla de minerales Hegsted. (18)

2 Mead Johnson, Evansville, Indiana, Estados Unidos de América.

3 Manna y Hauge (19).

saron 0.5 kg, se les agregó 3.000 ml de NaOH a la concentración de 0.05N y se sometieron a extracción en un agitador mecánico por el término de dos horas. Al final de este proceso se centrifugó, liofilizándose al extracto y el residuo; el material así obtenido se analizó para averiguar su contenido de nitrógeno, gosipol libre, gosipol total y lisina disponible.

RESULTADOS

A. Químicos

En el Cuadro N° 2 se detallan los resultados obtenidos en cuanto a la composición química proximal de las diferentes muestras estudiadas, indicándose además su contenido de calcio, hierro y fósforo. Los datos señalan que las harinas obtenidas por el método de prensa contienen más grasa que el material procesado por solvente o por el procedimiento de pre-prensa solvente. La cantidad de proteínas de las diferentes muestras constituye un reflejo del contenido de fibra cruda y grasa que permanece en el producto final. El promedio de la cantidad de grasa en las harinas elaboradas por prensa fue de 5.8% en comparación con 3.1 y 2.7% para el material preparado por pre-prensa solvente y por solvente, respectivamente. Puede apreciarse, asimismo, que el contenido promedio de hierro, calcio y fósforo es bastante similar en todas las muestras representativas de los tres procedimientos sometidos a estudio.

Las determinaciones de gosipol libre, gosipol total, índice de solubilidad de nitrógeno y epsilon-amino lisina (ϵ -NH₂-lisina) se dan a conocer en el Cuadro N° 3. Los resultados muestran que la cantidad promedio de gosipol libre en las muestras producidas por el método de extracción con hexano es de 0.131 g%, cifra que, en contraste con las que acusaron las muestras procesadas por los métodos de prensa o de pre-prensa solvente, corresponde a más del doble de esas cantidades, ya que las muestras sometidas a estos dos últimos procedimientos contienen cantidades similares de gosipol libre de 0.051 g%.

En lo referente al contenido de gosipol total, no se observó ninguna diferencia entre los tres métodos de elaboración.

El promedio del nitrógeno soluble en NaOH a la concentración de 0.02N fue de 71 y 74% para las harinas producidas

CUADRO N° 2

COMPOSICION QUIMICA PROXIMAL Y CONTENIDO DE Ca, Fe Y P DE LAS MUESTRAS OBTENIDAS POR TRES METODOS DE PROCESAMIENTO

Muestra	Humedad g%	Grasa g%	Fibra cruda g%	Proteína g%	Calcio mg%	Hierro mg%	Fósforo mg%
<u>Por el método de prensa</u>							
1-B	7.8	13.3	5.7	44.1	355	12.3	472
2-P	8.4	5.4	9.5	41.0	262	10.0	464
4-C	4.0	5.4	17.4	37.3	302	12.7	483
5-L	6.3	4.6	12.2	42.9	236	7.8	478
6-I	8.4	4.0	13.4	41.8	265	7.7	508
8-A	9.8	4.7	13.2	30.5	264	8.6	483
11-L	4.2	4.2	16.4	40.4	263	9.2	513
12-L	9.4	6.2	15.7	37.3	230	9.4	482
13-L	10.2	4.4	12.5	31.5	263	8.5	480
Promedio	7.6	5.8	12.9	38.5	271	9.6	485
<u>Por el método de pre-prensa solvente</u>							
3-A	10.1	0.9	5.4	48.6	228	9.2	437
7-B	10.3	3.6	4.3	50.5	270	7.2	494
9-P	8.5	5.5	3.3	41.0	333	8.9	558
14-B	10.5	2.3	9.6	35.2	425	15.7	763
Promedio	9.9	3.1	5.7	43.8	314	10.2	563
<u>Por el método de solo solvente¹</u>							
10-D	11.2	2.6	12.0	34.6	288	9.6	476
15-D	10.0	2.8	8.8	37.7	265	10.1	485
Promedio	10.6	2.7	10.4	36.2	276	9.8	480

¹Extracción con hexano.

CUADRO N° 3

CONTENIDO DE GOSIPOL LIBRE, GOSIPOL TOTAL, ϵ -NH₂-LISINA
Y SOLUBILIDAD DE NITROGENO EN NaOH 0.02N DE LAS MUESTRAS
OBTENIDAS POR TRES METODOS DE PROCESAMIENTO

Muestra	Gosipol libre g%	Gosipol total g%	ϵ -NH ₂ -lisina g/16 g N	N soluble g%
<u>Por el método de prensa</u>				
1-E	0.129	1.05	3.33	73
2-P	0.052	1.03	2.61	39
4-C	0.040	0.99	2.73	36
5-L	0.041	0.92	2.31	33
6-I	0.041	1.00	2.40	27
8-A	0.044	0.97	3.11	38
11-L	0.036	0.97	2.50	28
12-L	0.039	0.94	2.57	45
13-I	0.038	1.01	3.49	36
Promedio	0.051	0.99	2.78	39
<u>Por el método de pre-prensa solvente</u>				
3-A	0.035	0.87	3.11	78
7-B	0.077	1.06	3.06	67
9-P	0.038	0.91	2.93	57
14-B	0.054	0.74	4.21	81
Promedio	0.051	0.90	3.33	71
<u>Por el método de sólo solvente</u>				
10-D	0.129	0.95	3.93	69
15-D	0.133	1.01	3.57	79
Promedio	0.131	0.98	3.75	74

CUADRO N° 4

BALANCE DE NITROGENO EXTRAIDO CON NaOH 0.05N EN LAS
DIFERENTES HARINAS DE ALGODON ESTUDIADAS

Identificación de las harinas	Harinas de algodón completas		
	7-B	13-I	15-D
	Método de elaboración		
Proceso	Prensa	Pre-prensa-solvente	Solvente
Peso de la muestra, g.	13.000	12.000	14.000
% de nitrógeno en muestra	5.04	8.08	5.87
Volumen del extracto, g	1.875	5.985	3.755
% de N en extracto	3.41	7.18	6.50
% de extracción	9.7	44.3	30.0
Peso del residuo ¹	11.125	6.015	10.245
% de N en residuo	5.88	7.23	5.78
N total en el extracto g	64.0	430.0	244.0
N total en el residuo	654.0	435.0	592.0
% de N recuperado	100.0	90.0	100.0

¹Residuo deshidratado.

vente, respectivamente. En el caso de la harina elaborada por el método de prensa, éste fue de 9.7%.

Los resultados de los análisis químicos efectuados en las fracciones de las harinas de algodón se notifican en el Cuadro N° 5. Como puede apreciarse, las concentraciones de gosipol libre y total siempre fueron más bajas en el extracto y en el residuo que en la harina entera.

En el caso del material obtenido por prensa o por sólo solvente, los valores de ϵ -NH₂-lisina fueron similares para la harina entera, el extracto y el residuo; en la harina preparada por pre-prensa solvente, el contenido de lisina en el extracto fue más alto que en la harina entera. La cantidad de lisina disponible para el extracto fue de 3.68 g/16 gN, en contraste con 2.85 que acusó la harina entera.

por el procedimiento de pre-prensa solvente y de extracción con solvente, respectivamente. El promedio de la solubilidad de nitrógeno para las muestras obtenidas por el método de prensa fue de 39%.

La cantidad de epsilon-amino lisina promedió 3.75 y 3.33 g/16 gN para las muestras elaboradas por pre-prensa solvente y solvente, comparadas con 2.78 g que acusaron las harinas procesadas por prensa.

El Cuadro N° 4 muestra la distribución de nitrógeno en tres harinas extraídas con solución alcalina. Según se observa, en una extracción los porcentajes fueron de 44.3 y de 30.0 para el material producido por pre-prensa solvente y por sol-

CUADRO N° 5

CONTENIDO DE GOSIPOL LIBRE, GOSIPOL TOTAL Y ϵ -NH₂- LISINA
EN LAS MUESTRAS DE HARINAS DE ALGODÓN, EXTRACTOS
Y RESIDUOS SOMETIDOS A ESTUDIO

Muestras	Gosipol libre q%	Gosipol Total q%	ϵ -NH ₂ - lisina q%
<u>Por el método de prensa</u>			
13-I Harina completa	0.038	1.01	1.10
13-I Extracto	0.017	0.75	0.70
13-I Residuo	0.028	0.957	1.17
<u>Por el método de pre-prensa solvente</u>			
7-B Harina completa	0.077	1.06	1.55
7-B Extracto	0.044	0.495	1.65
7-B Residuo	0.058	0.907	1.71
<u>Por el método de sólo solvente</u>			
15-D Harina completa	0.133	1.01	1.31
15-D Extracto	0.092	0.784	1.37
15-D Residuo	0.038	0.955	1.38

B. Biológicos

En el Cuadro N° 6 se detallan los resultados correspondientes a las pruebas biológicas realizadas usando las distintas harinas preparadas por los tres procedimientos sometidos a estudio. Como los datos lo revelan, el promedio de ganancia ponderal de las ratas alimentadas con el material producido por el método de prensa fue de 62 g con un PER de 1.47. Los animales que recibieron las dietas a base de harinas obtenidas por el procedimiento de pre-prensa solvente y por el de solvente acusaron un incremento de peso promedio de 105 y 85 g, respectivamente, durante el período experimental. En el mismo orden se obtuvieron índices de eficiencia de utilización del alimento de 1.96 y 1.79.

Los valores obtenidos con la dieta testigo, preparada a base de caseína, fueron de 114 g para el aumento ponderal y de 3.09 para el PER.

CUADRO No. 6

CRECIMIENTO DE RATAS JOVENES ALIMENTADAS CON HARINAS
DE ALGODON OBTENIDAS POR TRES METODOS DIFERENTES

Dietas	Proteína %	Peso promedio inicial, g	Ganancia de peso, g	Proteína consumida, g	PER ¹
<u>Por el método de prensa</u>					
1-E	11.7	48	77 ± 2.86 ²	39.47	1.96 ± 0.04 ²
4-C	11.7	48	46 ± 2.34	35.19	1.30 ± 0.06
5-L	10.9	48	34 ± 5.60	35.36	1.07 ± 0.13
6-I	11.3	48	51 ± 3.70	37.37	1.37 ± 0.04
8-A	13.8	43	88 ± 3.57	56.41	1.56 ± 0.04
11-L	12.2	48	49 ± 4.30	38.13	1.28 ± 0.07
12-L	11.0	48	48 ± 3.11	33.00	1.45 ± 0.07
13-I	12.6	43	100 ± 5.00	55.59	1.79 ± 0.05
Promedio	-	-	62	-	1.47
<u>Por el método de pre-prensa solvente</u>					
3-A	12.3	48	76 ± 7.00	42.65	1.78 ± 0.08
7-B	12.2	48	88 ± 4.41	47.56	1.86 ± 0.05
9-P	13.2	43	115 ± 6.35	58.63	1.97 ± 0.06
14-B	13.2	43	139 ± 3.59	62.90	2.21 ± 0.04
Promedio	-	-	105	-	1.96
<u>Por el método de sólo solvente</u>					
10-D	13.4	48	76 ± 4.29	43.50	1.75 ± 0.05
15-D	13.1	43	93 ± 2.58	51.21	1.82 ± 0.02
Promedio	-	-	85	-	1.79
Caseína	10.6	48	112 ± 4.11	39.32	2.86 ± 0.07

¹PER (Índice de eficiencia proteica) = $\frac{\text{aumento de peso}}{\text{g de proteína consumida}}$
²Error Estándar.

La evaluación del valor nutritivo de las proteínas de las diferentes harinas extraídas con NaOH rindió los resultados que muestra el Cuadro N° 7. Como se aprecia, el extracto proveniente de la harina de algodón procesada por el método de prensa presentó un PER de 0.44 y una ganancia de peso de 8 g; la harina entera y el residuo tuvieron índices de eficiencia proteica de 1.69 y 1.51, y produjeron incrementos ponderales de 94 y 71 g, respectivamente. En cambio, en los animales alimentados con la fracción soluble en álcali del ma-

CUADRO No. 7

CRECIMIENTO DE RATAS JOVENES ALIMENTADAS CON HARINAS DE ALGODON COMPLETAS, EXTRACTOS (PROTEINA SOLUBLES EN NaOH) Y RESIDUOS

Dietas	Proteína %	Peso promedio inicial, g	Ganancia de peso, g	Proteína consumida, g	PER ¹
<u>Por el método de prensa</u>					
Harina completa	13.2	45	94 ± 7.55 ²	55.46	1.69 ± 0.05 ²
Extracto	13.2	45	8 ± 2.85	20.58	0.44 ± 0.11
Residuo	12.6	45	71 ± 1.93	47.35	1.51 ± 0.05
<u>Por el método de pre-prensa solvente</u>					
Harina completa	10.6	48	88 ± 5.71	38.39	2.28 ± 0.06
Extracto	13.0	48	117 ± 3.36	55.11	2.14 ± 0.03
Residuo	13.2	48	120 ± 6.42	57.79	2.09 ± 0.07
<u>Por el método de sólo solvente</u>					
Harina completa	11.5	48	98 ± 4.20	47.57	2.06 ± 0.05
Extracto	13.2	48	82 ± 3.44	45.11	1.81 ± 0.03
Residuo	12.9	48	117 ± 3.73	57.34	2.03 ± 0.09
Caseína	10.6	48	112 ± 4.11	39.32	2.86 ± 0.07

¹PER (Índice de eficiencia proteica) = $\frac{\text{Aumento de peso}}{\text{g de proteína consumida}}$

²Error Estándar.

CUADRO No. 8

CORRELACIONES ENTRE INDICE DE EFICIENCIA PROTEICA (PER) (1), EPSILON-AMINO-LISINA (2), GOSIPOL LIBRE (3) Y NITROGENO SOLUBLE EN NaOH (4) DE HARINAS DE ALGODON COMPLETAS, EXTRACTOS Y RESIDUOS

Harinas completas (15) ¹	Extractos (3) ²	Residuos (3) ²
r 1.2 = 0.72		
r 1.3 = 0.36	r 1.2 = 0.78	r 1.2 = 0.84
r 1.4 = 0.70; Y = 0.960 + 1.273X	r 1.3 = 0.64	r 1.3 = 0.57
r 2.3 = 0.55	r 2.3 = 0.07	r 2.3 = 0.71
r 2.4 = 0.73; Y = 1.989 + 2.056X		
r 3.4 = 0.62		

1 Número de harinas analizadas, procesadas por los tres métodos estudiados, distribuidas como sigue: por prensa, 9; por pre-prensa solvente, 4, y por sólo solvente, 2.

2 Número de extractos y residuos analizados, distribuidos como sigue: por prensa, 1; por pre-prensa solvente, 1, y por sólo solvente, 1.

Las correlaciones estadísticas realizadas entre los distintos parámetros medidos en el presente estudio constan en el Cuadro N° 8. De acuerdo con los datos, hubo correlación positiva entre el PER y el contenido de epsilon-amino lisina en los tres materiales estudiados. Los valores resultantes fueron de 0.72, 0.78 y 0.84 para la harina completa, el extracto y el residuo, respectivamente. En el caso de la primera, hubo una correlación positiva de 0.73 entre el ε-NH₂-lisina y el nitrógeno soluble en NaOH a la concentración de 0.02N; la correlación, de 0.70, entre eficiencia proteica y nitrógeno soluble, también fue positiva. Se considera interesante destacar, asimismo, el hecho de que los resultados señalaron una buena correlación entre el epsilon-amino lisina y el gosipol libre, al igual que entre el PER y el gosipol libre, tanto en el extracto como en el residuo. En el caso de la harina completa se encontró una correlación positiva de 0.36 entre el PER y el gosipol libre. El Cuadro también muestra las ecuaciones de

terial producido por el método de pre-prensa solvente y por el procedimiento de extracción con hexano, se obtuvieron índices de eficiencia proteica similares a los que acusaron los animales alimentados con las raciones preparadas a base de la harina entera y del residuo. En el caso del material elaborado por pre-prensa solvente, la harina entera tuvo como resultado un PER de 2.28 y una ganancia de peso de 88 g, mientras que con el extracto, los valores resultantes fueron de 2.14 y 2.12. Con el residuo se obtuvo un incremento ponderal de 120 g y un PER de 2.09. Los animales que consumieron las dietas con harina producida por solvente, tuvieron una ganancia ponderal de 98 g comparada con 82 y 116 g que acusaron las ratas alimentadas con el extracto y el residuo, en ese orden.

regresión entre Nitrógeno soluble y lisina disponible, y Nitrógeno soluble y PER.

Las diferencias entre los promedios de la solubilidad de nitrógeno ($P < 0.01$), el contenido de ϵ -NH₂-lisina ($P < 0.05$) y el gosipol libre ($P < 0.01$) fueron estadísticamente significativas entre los diferentes métodos de procesamiento estudiados.

DISCUSION

Los datos que se informan en el presente trabajo, en cuanto a la composición química de las diferentes harinas de algodón, confirman en general los resultados que se citan en la literatura a este respecto (1, 10, 11).

El menor contenido de gosipol libre obtenido con el procedimiento de extracción por prensa, en comparación con el método por solvente, se debe a la acción mecánica y a las altas temperaturas que se desarrollan en las prensas, todo lo cual afecta las glándulas de gosipol de la semilla. Básicamente, ese procedimiento hace que parte del gosipol sea eliminado en el aceite, parte sea destruida por el calor y parte reaccione con la lisina y otros compuestos orgánicos de la semilla. Estos hallazgos los confirman los menores valores de lisina disponible encontrados en dichas harinas, en contraste con los que acusa el material producido por solvente, lo que a su vez hace que la deficiencia de lisina aumente en la proteína del algodón (12-14).

En el caso del procedimiento de pre-prensa solvente, conviene señalar que, aun cuando el contenido de gosipol libre es bajo, la calidad de la proteína se ve bastante protegida por el tratamiento menos drástico que sufre la semilla al nivel de las prensas. Se ha informado que en este proceso (10) la torta de la semilla de algodón sale de las prensas hasta con 15% de aceite residual.

Con el método de extracción por solvente, en cambio, el alto contenido de gosipol libre que —en contraste con los dos procesos mencionados— acusa el producto final, se debe a que el solvente utilizado es, como se dijo, el hexano, cuya capacidad para extraer este pigmento es casi nula. Por otro lado, el tratamiento de la semilla previo a la extracción del aceite

es relativamente suave, lo que da como resultado un producto con un alto contenido de lisina disponible.

Los datos concernientes al índice de solubilidad de nitrógeno reflejan —en los tres métodos de elaboración estudiados— el tratamiento que las proteínas de la semilla sufren durante el procesamiento. Aunque ciertos autores (11, 15) ponen en tela de juicio la validez de este índice para evaluar el efecto del método de producción sobre la calidad de la proteína de la semilla de algodón, los datos recabados en el presente estudio indican que éste constituye una medida química de valor práctico para evaluar la calidad del producto final.

Igual interés merecen los hallazgos químicos obtenidos con el material resultante de la extracción de las harinas de algodón con NaOH a la concentración de 0.02N, y del residuo. La menor cantidad de gosipol libre que en comparación con la harina completa se determinó en el extracto y en el residuo, se debe posiblemente a una destrucción de este pigmento a causa del pH alcalino en que se llevó a cabo la extracción de las proteínas, según resultados de otros estudios de Bressani y colaboradores al respecto (2, 16).

Los datos correspondientes a la experimentación biológica confirman en parte los resultados químicos. El menor incremento ponderal de los animales y los bajos índices de eficiencia proteica que acusaron los grupos alimentados con el material producido por el método de prensa, comparados con los que arrojaron las ratas que recibieron dietas a base del material elaborado por los métodos de pre-prensa solvente y de sólo solvente son, en concreto, un reflejo del deterioro que las proteínas sufren durante la etapa de elaboración.

Bien puede ser que la superioridad en ganancia ponderal y en PER del grupo de animales alimentados con el material procesado por pre-prensa solvente, en comparación con los obtenidos usando el procedimiento de extracción con sólo solvente, se deba a la mayor cantidad de gosipol que posee el material sometido al último proceso citado.

De interés académico y práctico son los resultados biológicos que se obtuvieron con la proteína soluble en NaOH y con los residuos. La similitud en cuanto a valor nutritivo y contenido de lisina disponible que estas dos fracciones (extracto y residuo) arrojaron en comparación con la harina

entera, sugieren la posibilidad de su utilización como fuentes adicionales de proteína.

Conviene subrayar también el hecho de que en el caso de la harina obtenida por el método de prensa, el valor nutritivo del extracto es significativamente inferior al de la harina entera y al del residuo.

De particular importancia para los objetivos del trabajo aquí descrito son los resultados de los análisis estadísticos a que se sometieron los diferentes parámetros medidos. Los datos resultantes confirman la utilidad práctica de los diferentes métodos usados para evaluar el valor nutritivo de las distintas harinas de semilla de algodón sometidas a estudio.

Las correlaciones establecidas entre la lisina disponible y el índice de eficiencia proteica y entre la solubilidad de nitrógeno en NaOH y el PER, por un lado, así como la correlación positiva entre la lisina disponible y la solubilidad de nitrógeno, por el otro, corroboran la validez de este último para predecir el valor nutritivo de las harinas de semilla de algodón.

No obstante que los resultados revelan una buena relación entre la solubilidad de la proteína en medio alcalino y el contenido de lisina o el PER, se considera importante señalar que en el caso de las harinas de algodón producidas por extracción con solvente o por el método de pre-prensa solvente, existe discrepancia en estas relaciones. Puede ser que la alta correlación notificada se deba a que en el grupo total de muestras que incluyó el estudio la mayoría eran materiales procesados por prensa, y es posible que, en este caso, la solubilidad de la proteína sea más útil como índice de calidad nutricional. El método de solubilidad es menos sensitivo para las harinas procesadas con sólo solvente, aseveración que sustentan tanto el análisis de lisina disponible como el PER, los cuales no acusaron diferencias entre la proteína de la harina entera, la obtenida por extracción y la del residuo.

Por otro lado, la relación directa existente entre la cantidad de epsilon-amino lisina y el contenido de gossipol libre en la harina entera y en el residuo, puede interpretarse como consecuencia de la menor reacción que hubo entre este amino-

ácido y el gossipol durante la etapa de procesamiento, en el caso de los métodos de solvente y de pre-prensa solvente, y de una mayor reacción cuando el método utilizado fue el de la prensa de tornillo.

Es posible que la ausencia de correlación entre estos parámetros, que se observó en los extractos, sea el resultado de la destrucción del gossipol libre en el material, debido al pH alcalino en que se llevó a cabo la extracción de las proteínas. De esta manera, la destrucción artificial de dicho pigmento tiene como consecuencia un desequilibrio en la relación lisina-gossipol libre.

Un aspecto de futuro interés sería emprender estudios más concienzudos de la fracción soluble del hidróxido de sodio. La creciente demanda de proteínas de origen vegetal justificaría plenamente el aprovechamiento de este material, como se ha hecho con las proteínas del frijol de soya (17). Al mismo tiempo, ello significaría la apertura de nuevos horizontes en la solución de este problema cuya trascendencia económica y nutricional es evidente.

SUMMARY

Comparative study of different methods for the evaluation of the protein quality of cottonseed flours

Samples of cottonseed meal prepared by screw press, pre-press solvent and solvent extraction techniques were obtained to study the relationship between chemical and biological tests of protein quality.

The samples were first analyzed for their proximate chemical composition as well as for Ca, P, Fe, free and total gossypol, free epsilon-amino-lysine and nitrogen solubility in 0.02N sodium hydroxide solution.

The various meals were fed to rats to evaluate their protein quality using the protein efficiency ratio (PER) method. Furthermore, a representative sample from each process was extracted with 0.05N NaOH to obtain the alkali-soluble protein and insoluble nitrogen in the residue, which were also assayed for their protein quality by the PER method.

The results showed screw press meals to contain more residual fat, less available lysine, lower alkali-soluble nitrogen and PER, in comparison to the pre-press solvent and solvent prepared meals.

There was a positive correlation between PER and available lysine, PER and nitrogen solubility. The content of available lysine and the PER of the NaOH extracted proteins and residual proteins from the pre-press solvent and solvent meals, were essentially the same as the available

lysine and PER of the respective meals. However, the PER and available lysine of the protein prepared from screw press meals were lower than the values obtained both from the residual protein and the whole meal.

The free gossypol content of the extracted and residual proteins was lower than in the respective whole meals. From these results it was concluded that cottonseed protein isolate of high quality can be prepared from pre-press solvent and solvent extracted meals, but not from screw press meals. Nitrogen solubility in alkaline solution is a good technique to screen for the protein quality of cottonseed meals.

BIBLIOGRAFIA

- (1) Bressani, R., L. G. Elías & J. E. Braham.—Cottonseed protein in human foods. *Adv. Chem. Series*, No. 57, p. 75-100, 1966.
- (2) Bressani, R., L. G. Elías, R. Jarquín & J. E. Braham.—All-vegetable protein mixtures for human feeding. XIII. Effect of cooking mixtures containing cottonseed flour on free gossypol content. *Food Tech.*, 18: 95-99, 1964.
- (3) Protein Advisory Group, WHO/UNICEF/FAO. Tentative quality and processing guide. Cottonseed protein concentrate for human consumption. Rome, July, 1965.
- (4) Association of Official Agricultural Chemists. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Agricultural Chemists*. 9th ed., Washington, D. C., 1960.
- (5) Fiske, C. H. & Y. Subbarow.—The colorimetric determination of phosphorus. *J. Biol. Chem.*, 66: 375-400, 1925.
- (6) Moss, M. L. & M. G. Mellon.—Colorimetric determination of iron with 2, 2' -bipyridyl and with 2, 2', 2'' -terpyridyl. *Industrial Eng. Chem. Anal. Ed.*, 14: 862-865, 1942.
- (7) American Oil Chemists' Society. *Official and tentative methods of the American Oil Chemists' Society*. 2nd. ed., Chicago, Ill., 1945-1950.
- (8) Conkerton, E. J. & V. L. Frampton.—Reaction of gossypol with free ϵ -amino groups of lysine in proteins. *Arch. Biochem. Biophys.*, 81: 130-134, 1959.
- (9) Lyman, C. M., W. Y. Chang & J. R. Couch.—Evaluation of protein quality in cottonseed meals by chick growth and by a chemical index method. *J. Nutrition*, 49: 679-690, 1953.
- (10) Bressani, R. & L. G. Elías.—Cambios en la composición química y en el valor nutritivo de la proteína de la harina de semilla de algodón, durante su elaboración. *Arch. Latinoamer. Nutr.* 18: 319-339, 1968.
- (11) Altschul, A. M., C. M. Lyman & F. H. Thurber.—Cottonseed meal. In: *Processed Plant Protein Foodstuffs*. A. M. Altschul (Ed.), Academic Press, New York, 1958, p. 469-534.
- (12) Miner, J. J., W. B. Clower, P. R. Noland & E. L. Stephenson.—Amino acid supplementation of a corn-cottonseed meal diet for growing-fattening swine. *J. Animal Sci.*, 14: 24-29, 1955.
- (13) Frampton, V. L., F. L. Carter, B. Piccolo & B. W. Heywang.—Cotton-

seed constituents and discolorations in stored shell eggs. *J. Agr. Food Chem.*, 10: 46-48, 1962.

- (14) Milligan, J. L., L. J. Machlin, H. R. Bird & B. W. Heywang.—Lysine and methionine requirements of chicks fed practical diets. *Poultry Sci.*, 30: 578-586, 1951.
- (15) Eagle, E., H. F. Bialek, D. L. Davies & J. W. Bremer.—Biological vs. chemical evaluation of toxicity and protein quality of cottonseed meals. *J. Am. Oil Chemists Soc.*, 33: 15-21, 1956.
- (16) Bressani, R., L. G. Elías & J. E. Braham.—Effect of pH on the free gossypol level and nutritive value of cottonseed protein concentrates. *Fed. Proc.*, 24: 626, 1965.
- (17) Circle, S. J. & D. W. Johnson.—Edible isolated soybean protein. In: *Processed Plant Protein Foodstuffs*. A. M. Altschul (Ed.), New York, Academic Press Inc., 1958, p. 399-418.
- (18) Hegsted, D. M., R. C. Mills, C. A. Elvehjem & E. B. Hart.—Choline in the nutrition of chicks. *J. Biol. Chem.*, 138: 459-466, 1941.
- (19) Manna, L. & S. M. Hauge.—A possible relationship of vitamin B₁₂ to orotic acid. *J. Biol. Chem.*, 202: 91-96, 1953.