

Tesis de Posgrado

Sobre la composición química de la semilla y de los aceites de semilla de *sesamum indicum* L. (sesamo) de la República de Colombia : Aislamiento de proteínas de las harinas de extracción

Villegas Varela, Lucía

1973

Tesis presentada para obtener el grado de Doctor en Ciencias Químicas de la Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en digital.bl.fcen.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

Villegas Varela, Lucía. (1973). Sobre la composición química de la semilla y de los aceites de semilla de *sesamum indicum* L. (sesamo) de la República de Colombia : Aislamiento de proteínas de las harinas de extracción. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_1415_VillegasVarela.pdf

Cita tipo Chicago:

Villegas Varela, Lucía. "Sobre la composición química de la semilla y de los aceites de semilla de *sesamum indicum* L. (sesamo) de la República de Colombia : Aislamiento de proteínas de las harinas de extracción". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1973. http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_1415_VillegasVarela.pdf

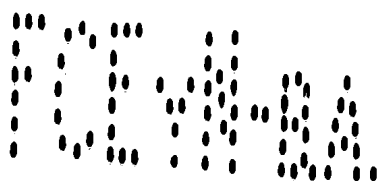
EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

SOBRE LA COMPOSICION QUIMICA DE LA SEMILLA Y DE LOS
ACEITES DE SEMILLA DE SESAMUM INDICUM L. (SESAMO)
DE LA REPUBLICA DE COLOMBIA
AISLAMIENTO DE PROTEINAS DE HARINAS DE EXTRACCION

Tesis presentada para optar al título de

DOCTORA EN CIENCIAS QUIMICAS

1415-4
(2)

LUCIA VILLEGAS VARELA

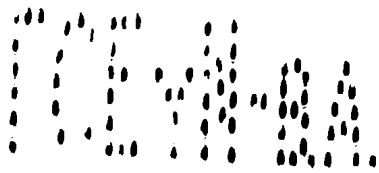
1973

OEQA

La realización de este trabajo de Tesis fue posible mediante la adjudicación, a la autora, de una beca por parte de la Organización de Estados Americanos OEA (Programa Multinacional de Química)

CEWA

Mis agradecimientos a la Directora de Tesis Dra. María H. Bertoni, quien aportó su conocimiento científico y su experiencia para la realización de este trabajo.



A G R A D E Z C O

Al Dr. Pedro Cattaneo Consejero de Estudio por sus valiosos consejos y acertada dirección.

Al Dr. Juan C, Sanahuja y a su equipo de trabajo de la -
Cátedra de Bromatología y Nutrición Experimental, Facultad -
de Farmacia y Bioquímica U.B.A. por la colaboración y orientación que me brindaron en los ensayos biológicos de este --
trabajo.

Al Químico Farmacéutico César López L. por su colaboración en los estudios de composición acídica.

Al Dr. Ricardo Fernandez Dorr Gerente de la Oficina Comercial de Colombia en Buenos Aires;

Al Ingeniero Agrónomo Bayardo Villegas V. del Instituto Colombiano Agrario;

y a la Estación Experimental Agrícola "La Banda" de INTA por haberme facilitado la materia prima utilizada en este --
trabajo.

A mis compañeros becarios de OEA por su amistad y apoyo.

A mi padre
A mis hermanos

I N T R O D U C C I O N

HISTORIA- Sesamum indicum (L) es una planta herbácea perteneciente a la familia de las Pedaliaceas, que comprende 16 géneros y 60 especies que desarrollan en áreas tropicales y subtropicales. Linneo dio el nombre S. indicum a las variedades que producen semilla de color claro y el de S. orientale a las que proporcionan semilla de tonos oscuros, pero De Candolle considera que ambas pertenecen a las mismas especies. Como consecuencia de distintos criterios el género Sesamum ha sido ubicado en diferentes familias: Bignoniaceas, Sesamáceas, Martineáceas, Gesneráceas y Pedaliáceas, esta última finalmente aceptada (1,2).

El lugar de origen del sésamo es desconocido. Leukowitsch (3) admite con De Candolle que la semilla se introdujo en la India desde las islas Sunda hace varios miles de años, para luego llegar a Egipto a través del Eufrates (4). Altschul (2) considera a la India y Afganistan como lugares de origen. Se ha señalado que además de las especies cultivadas, existen 17 especies salvajes en Africa y otras 2 en la India no existentes en Africa (4).

La semilla de S. indicum se conoce con diferentes nombres "till" o "gingelly" en la India, "simsím" o "benne" en Africa y "ajonjolí" en América Latina.(4).

El sésamo se ha cultivado por centurias en Africa, en toda Asia Menor, India, China, Manchuria, Japón y en parte de Europa. En 1930 se iniciaron cultivos extensos en América del Sur, América Central y Méjico originándose así cosechas de -- una nueva oleaginosa. En los Estados Unidos de Norte América

la semilla se introdujo hacia fines del siglo XVII desde África Oeste por parte de los esclavos negros.

LA PLANTA- Sesamum indicum L (2,5) es una planta anual -- erecta, cuya altura en madurez varía entre 0,90 y 1,40 metros. Alcanza ese grado en lapsos de 70 a 150 días, según la variedad y las condiciones ambientales. Las hojas pueden señalarse como dentadas, palmeadas y enteras. De una a cuatro flores -- blancas a rojas semejando campanillas, desarrollan en la axila de cada hoja. El fruto consiste de vainas elípticas di-, -- tri-, o tetra loculadas y anormalmente con mayor número de lóculos. Cada lóculo o cámara se divide por tabique en dos celdas que contienen 15 a 20 semillas cada una de color variable entre blanco y negro según la variedad.

El vegetal tolera suficientemente cortos períodos de sequía y de altas temperaturas y algunas variedades alcanzan la maduración en cortos períodos y en suelos relativamente pobres. Por el contrario este vegetal compete desfavorablemente con malezas durante los primeros estados de crecimiento y es susceptible a ciertos insectos y enfermedades. Entre estas últimas merecen citarse los siguientes agentes causantes: el hongo Cercospora sesamí Zimm., especies Alternaria y la bacteria Pseudomonas sesami Malkioff, cuyos desarrollos son favorecidos por lluvias prolongadas y temperaturas elevadas y que --- afectan a sus hojas. Otros agentes causantes de diversas enfermedades son: Pseudomonas solanacearum E.F.S., Pellicularia rolfii Sacc., Macrophomina phaseoli Taub., y Phymatotricum omnivorum (Shear) Dugar. Ciertos áfidos (chinchas, pulgones, ba

rrenadores, gorgojos) pueden causar daños de significación variable.

Una característica del sésamo que ha conspirado contra la introducción y el desarrollo de cultivos extensos en países altamente tecnificados reside en la maduración no uniforme de los frutos. Por otra parte, la semilla está contenida en vainas del tipo dehiscente que se forman a lo largo del tallo. Las cápsulas más cercanas al suelo maduran primero y se abren después liberando sus semillas antes que terminen de madurar los frutos restantes, con la consiguiente pérdida de semilla. Por ello los grandes cultivos han ocurrido en países con gran disponibilidad de mano de obra de bajo costo. De ahí la tendencia hacia el desarrollo de variedades con frutos no dehiscentes ("non shattering") apropiadas para la cosecha mecanizada. Los estudios iniciales ocurrieron en U.S.A. en 1943 (South Carolina Exp. St.) en base a variedades dehiscentes, fuertemente incrementados por el hallazgo en Venezuela de una forma indehiscente por Langham (6). Yarmanos (7) y Howell (8) se refieren a lo realizado por el desarrollo de esas variedades que podrían prestarse a cosechas más económicas.

Los rendimientos en semilla por hectárea son muy variables según suelos, fertilidad, lluvias, cultivos simples o mixtos, etc. En varios distritos de la India se logran 139,7 a 477,3 Kg/Ha. En Venezuela se mencionan rendimientos entre 895,8 y 2.239 Kg/Ha y en Méjico entre 391,8 y 1.119,5 Kg/Ha (5).

LA SEMILLA- La semilla de sésamo es muy pequeña dependiendo del tamaño de la variedad y de las condiciones de cultivo. Usualmente 1000 semillas pesan entre 2 y 3,5 g. La semilla se seca al aire contiene alrededor de 5 % de humedad entre 35 y 57 % de aceite (corrientemente entre 44 y 54%) y 19 a 25 % de proteínas (5). Otras informaciones (1) señalan los siguientes valores extremos (entre paréntesis los valores promedio): Humedad 4,7-7,1 (5,6), Proteínas 19,5-22,7 (21,1), Aceite 35,1-56,8 (46,8), Fibra cruda 1,7-11,2 (5,1), Cenizas 3,4-8,5 (6,0) Menezes, Budowski y Dollear (9) citan las cifras siguientes - para semilla cosechada en South Carolina y Nebraska (U.S.A.) Humedad 4,8-5,3; Aceite 54,8-55,6; Proteínas 19,4-26,4%. Kinman y Stark (10) mencionan 45-63 (54%) y 17-32 (26%) para los contenidos en aceite y proteínas, respectivamente, en semilla cosechada en el Sur y Sudoeste de U.S.A.

La semilla tiene forma de pera achatada con un máximo de 3 mm para su diámetro mayor, Su estructura microscópica muestra en la parte exterior el espermodermo seguido del parénquima que contiene cristales de oxalato de calcio. Las cenizas de semilla de sésamo son ricas en calcio cuya mayor concentración ocurre en las células del espermodermo. La siguiente es una composición de tales cenizas:

$\underline{K_2O}$ 11,85; $\underline{Na_2O}$ 1,79; \underline{CaO} 35,14; \underline{MgO} 12,88; $\underline{Fe_2O_3} + \underline{Al_2O_3}$ 3,04; $\underline{P_2O_5}$ 30,82; $\underline{SO_3}$ 0,89; $\underline{SiO_2}$ 3,04 y \underline{Cl} 0,16 %.

Se ha señalado que la semilla contendría 0,08 a 0,26 % de ácido oxálico extraíble por agua y 0,21 a 1,22 % de oxalato de calcio (1). Informaciones más recientes indican valores

de 1 a 2% de ácido oxálico que ocurriría como sal cálcica en la parte más exterior de la semilla y por tanto prácticamente eliminable por decorticación (11).

En 1968 los principales países que lo cultivan produjeron 1.615.000 toneladas de semilla con la distribución que figura en la Tabla 1 (12).

La mayor parte de la semilla tiene destino y se industrializa en los propios países productores ya que sólo el 5% de la producción total se exporta.

La semilla de sésamo se emplea principalmente en la producción de aceite, pero como tal se usa extensamente en productos de panadería y confitería y en la elaboración de manteca de sésamo y de bebidas sustituto de la leche. Las tortas, "expellers" y harinas residuales de la obtención de aceite se emplean como suplemento proteico en la alimentación animal. El aceite se consume como aceite alimenticio o comestible para cocina y se modifica por hidrogenación adecuada y así es materia prima para elaborar margarinas y "shortenings". Además las calidades bajas se destinan a la producción de jabones. También se emplea como fijativo en perfumería y en la industria farmacéutica como portador de principios liposolubles. Se ha señalado su uso como sinérgico en la formulación de ciertos insecticidas (4,13).

EL ACEITE- El aceite de semilla de sésamo merece considerarse desde varios puntos de vista que hacen a su obtención industrial, a su composición acídica y contenido en componentes menores comunes a otros aceites seminales y de otros pro-

pios del sésamo y que se vinculan a su resistencia a procesos de autoxidación que posibilitan su empleo a otros fines, además de los nutricionales. En esta introducción se hace referencia a esas consideraciones:

a) Obtención industrial- Los métodos primitivos para la separación del aceite de la semilla, tal vez aún usado en pequeña escala en partes de la India, y países africanos, comprendían el machacado de la semilla en morteros de madera seguido de tratamiento con agua caliente y aislamiento continuo del aceite sobrenadante.(5).

El principal y casi único método de obtención fue por mucho tiempo el prensado. Así se describe en 1866⁽¹⁴⁾ el proceso industrial a partir de semilla de Levante rinde en las fábricas francesas 50 % de aceite a saber: 30% de aceite superfino por una primera presión; 10% de aceite fino por segunda presión de la torta previamente tratada con agua fría y 10% de aceite común u ordinario por una tercera presión de la torta tratada con agua caliente. El aceite superfino es excelente y comestible, un poco más claro y liviano que el aceite de oliva y de sabor ligeramente picante, incoloro, no secante, de color amarillo oro y congela a -5°C[”]. Halphen (15) agrega (en 1912) que este proceso aplicado a semilla de Bombay rinde de 25; 11 y 11% de esos tres tipos de aceite y que la semilla de Jaffa (Palestina) es la que produce los mejores aceites. Señala que el tipo superfino se emplea en la alimentación como tal o en mezclas con aceites de oliva o de otras semillas y destaca que cuando ha sido bien obtenido es muy poco altera

ble al aire y que difícilmente enrancia, observación que encontraría justificación muchos años después al estudiarse las propiedades antioxidantes de algunos constituyentes menores - del aceite de sésamo.

Tradicionalmente las técnicas de prensado han sido las empleadas en Europa (prensas hidráulicas). Un primer prensado - en frío producía el aceite de mejor calidad, de color claro y de sabor y olor suaves que se consumía, al igual que el aceite de oliva, sin ningún tratamiento ulterior excepto la clarificación. El segundo prensado generalmente en caliente, proporciona un aceite de mayor color que se somete a refinación para fines comestibles. La tercera expresión también en caliente proporciona aceite de calidad inferior, corrientemente usado en jabonería.

El empleo de "expellers" en lugar de prensas hidráulicas se ha difundido ampliamente en U.S.A. y en Centro y Sudamérica y en estos casos el aceite se refina (neutralización, blanqueo y desodorización). Más recientemente se opera por combinación de prensado y agotamiento de las tortas por solventes a los fines de máxima recuperación de aceite, refinándose la mezcla de aceite de prensa y de extracción.(4).

Andraos, Swift y Dollear (16) y Menezes, Budowski y Dollear (9) han estudiado la extracción directa de la semilla - molida con hexano en escala planta piloto, señalando la obtención de aceites crudos de extracción de bajos valores de acidez libre y de color, que se neutralizan (soda caústica) con pérdidas mínimas y blanquean con cantidades relativamente pe-

queñas de diversas tierras blanqueantes. Sin embargo la producción comercial por extracción directa no parece haberse aplicado, tal vez en razón del elevado contenido de aceite de la semilla (4).

b) Características- Físicoquímicas- Las características físicoquímicas más importantes del aceite de sésamo han sido compiladas por Eckey (5) con los siguientes valores:

Ind. de saponificación (187-193); índice de yodo (104-116) índice de hidróxilo (1-10); índice de Reichert-Meissl (0,1-1,0); insaponificable % (0,9-2,3); índice de refracción a 25° (1,470-1,474); a 40° (1,464-1,468); densidad relativa a 25/25° (0,916-0,921).

Por otra parte las especificaciones de la American Oil Chemists' Society (17) son:

Índice de saponificación (187-193); índice de yodo (104-118); índice de hidroxilo (máx.10); índice de Reichert- Meissl (máx.2,8); insaponificable % (máx.1,8); índice de refracción a 25° (1,472-1,474); densidad relativa a 25/25° (0,918-0,926)

Finalmente la Norma Internacional Recomendada para el --- aceite de semilla de sésamo comestible por el Programa Conjunto FAO/OMS sobre Normas Alimentarias (CAC/RS 26-1969) estipula:

Densidad relativa a 20/20° (0,915- 0,923); índice de refracción (40°) (1,465- 1,469); índice de saponificación (187-195); índice de yodo (Wijs) (104-120); insaponificable % (máx 2,0); índice de ácido (aceite virgen) (máx. 4,0 mg KOH/g), -- (aceite refinado) (máx. 0,6 mg KOH/g); índice de peróxidos --

(máx.10 mEq O₂ peróxido/Kg de aceite).

Esta misma norma, al igual que para otros aceites alimenticios, fija los siguientes valores máximos para diversos contaminantes:

materia volátil (105°) (0,2%); impurezas insolubles (0,05%); contenido de jabón (0,005%); hierro (Fe) (aceite virgen - 5 mg/Kg; aceite refinado 1,5 mg/Kg); cobre (Cu) (aceite virgen 0,4 mg/Kg; aceite refinado 0,1 mg/Kg); arsénico (As) (0,1 mg/Kg); plomo (Pb) (0,1 mg/Kg). Dicha norma establece que los aceites de sésamo deben dar reacción positiva de Villavecchia modificada (o reacción de Baudouin). Del mismo modo menciona los aditivos permitidos (colorantes, aromatizantes, antioxidantes, sinérgicos antioxidantes, antiespumantes e inhibidores de cristalización así como las cantidades máximas a emplear.

Existen numerosas menciones en la literatura acerca de la actividad óptica del aceite de semilla de sésamo, que datan de publicaciones de fines del siglo pasado (1887) (1). Los valores indican rotaciones dextrogiras $\alpha_D^{15} = + 3,1^\circ$, (2 dm), $\alpha_D^{25} = + 0,93^\circ$ a $+ 1,44^\circ$, (1dm), etc., que resultaron inexplicables en una mezcla de glicéridos de ácidos grasos desprovistos de actividad óptica.

Aunque ello había sido señalado con anterioridad, Budowski (18) confirmó que esa actividad se debe a la presencia en los aceites de sésamo de los compuestos Sesamina y Sesamolina así como de Fitoesteroles (todos ellos presentes en sus insaponificables), dependiendo las desviaciones observadas de las

concentraciones de tales compuestos en los aceites.

c) Composición acídica- No son muy numerosos los estudios registrados en la literatura en este rubro y tampoco se encuentra información suficiente acerca de las relaciones entre valores de composición acídica y diversos factores de incidencia, como ser el varietal y el climático.

Un análisis de los trabajos más significativos publicados lleva a clasificarlos en dos grupos: los valores logrados en base a métodos usados hasta el advenimiento de la cromatografía de la partición gas-líquido y los que responden a esta última técnica analítica.

La Tabla 2 resume a los del primer grupo, compilados por Hilditch y Williams (19). En la misma se indican los valores expresados en % de ácidos totales para aceites de sésamo de distintos orígenes, así como la bibliografía original. Chakrabarty y Hilditch (24) consideran que la composición acídica de aceite de sésamo resulta muy poco afectada por influencias climáticas y que los valores extremos de composición oscilan generalmente entre 40-48% para 18:2; 35-45% para 18:1 y alrededor del 15% para los saturados totales. Estos investigadores afirman que el ácido linolénico no está presente en aceites de semilla de sésamo, mientras Hilditch y Riley (23) estiman 0,5% de un ácido hexadecenoico (16:1).

La Tabla 3 recientemente publicada por Lyon (13) puede considerarse ilustrativa del estado actual del conocimiento de la composición acídica (CGL) del aceite de semilla de sésamo. Las cifras más importantes del mismo son sin duda, las de

la columna primera, propiciadas por el Programa Conjunto FAO/OMS sobre Normas Alimentarias (CAC/RS26-1969) del Codex Alimentarius. Algunos valores de esta misma tabla se apartan significativamente de los extremos propuestos por FAO/OMS, principalmente para 16:0 y 18:0, que aparecen como muy elevados.

La cromatografía gas líquido ha evidenciado en bajas concentraciones, la existencia de varios componentes no señalados anteriormente, tales los ácidos 17:0, 17:1, 18:3, 20:1, 22:0, componentes en menos de C₁₄ y probablemente 24:0. Esta comprobación no significa un hallazgo que contribuya especialmente a confirmar la condición de "genuino" de un aceite de sésamo a través de un cromatograma, desde que también existen en la mayoría de los aceites de semilla de otras oleaginosas.

De la confrontación de las Tablas 2 y 3 surge que los extremos FAO/OMS comprenden a los que surgen de la Tabla 2. Como se expone más adelante (Discusión de la Parte Experimental) también comprenden a los observados por CGL para aceite de sésamo de semilla Colombiana.

d) Componentes menores-

d₁- Lignanos (sesamina, sesamolina y compuestos vinculados).

La semilla de S.indicum contiene dos componentes menores, sesamina y sesamolina (presente en el aceite), responsables de reacciones coloreadas características, de su acción sinérgica con insecticidas (piretrinas) y de otras propiedades específicas. Además el aceite contiene sesamol, un antioxidante fenólico corrientemente presente en el orden de las trazas y

que se forma a partir de la sesamolina bajo condiciones derivadas de los procesos tecnológicos de obtención industrial -- del aceite.

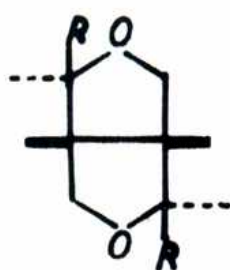
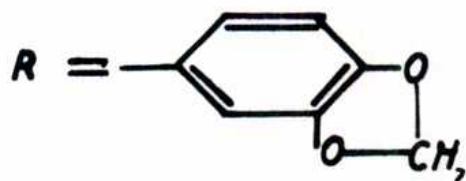
Budowski y Markley (4) presentaron en 1951 una información crítica de la literatura sobre sesamina, sesamolina y sesamol. En 1964 Budowski (29) realizó un estudio similar a la luz de lo investigado con posterioridad.

El objetivo de esta información es presentar el conocimiento a que se ha llegado sobre las estructuras de tales compuestos, más que hacer una exposición completa de los trabajos que condujeron a las mismas.

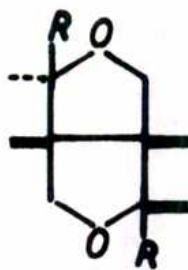
La sesamina fue inicialmente aislada por Tocher (30) partiendo de un extracto acético de aceite de sésamo y más tarde en estado de pureza por Villavecchia y Fabris (31) a partir de insaponificable. Su fórmula molecular correcta ($C_{20}H_{18}O_6$) fue establecida en 1928 en forma independiente por Adriani (32) y por Böeseken y Cohen (33). Su estructura y propiedades fueron extensamente estudiadas por Bertram et. al (34) y su fórmula estructural propuesta por Bruchhausen y Gerhard (35). La sesamina es 2,6-(3,4-metilendioxfenil)cis-2,7-dioxabicyclo [3.3.0]octano. Fue sintetizada en tres laboratorios diferentes por Beroza y Schechter (36), Freudentberg y Fischer (37) y Bruchhausen y Lingner (38).

De acuerdo a su fórmula son posibles 3 esteroisómeros, cada uno existiendo en dos formas enantiomorfas. Los tres esteroisómeros han sido aislados y responden a las estructuras de la Fig.1 (39).

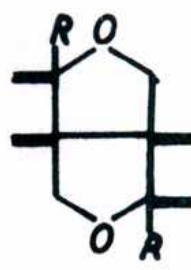
FIG. 1- Configuraciones absolutas de los estereoisómeros dextrorrotatorios de las series sesamina.



(+) Sesamina

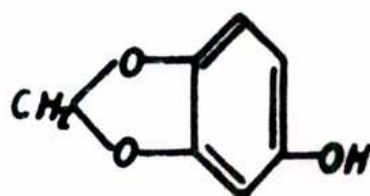


**(+) Asaritina
ó Episesamina.**



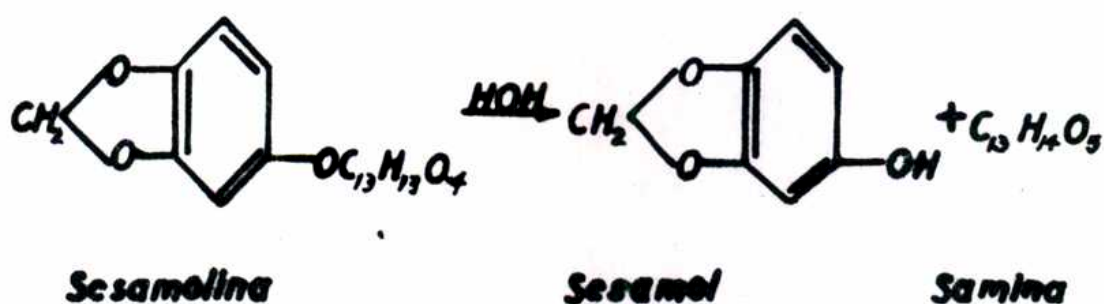
**(+) Diasesamina
ó Epiasaritina.**

La (+) -sesamina ha sido aislada de otros vegetales, además del S. indicum. La sesamolina fue aislada inicialmente - en 1903 de aceite de sésamo por Canzoneri y Perciabosco (40). Malagnini y Armani (41) identificaron a uno de sus productos de hidrólisis ácida como el éter metilénico de la oxihidroquinona de fórmula:



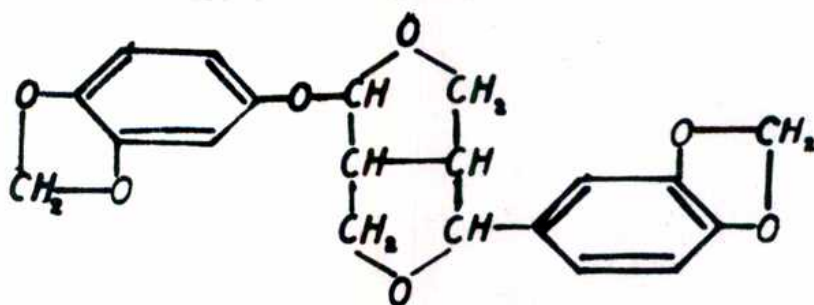
Sesamol.

que anteriormente había sido evidenciado por Kreis (42) dándole el nombre de sesamol. El compuesto inicialmente aislado por Canzoneri y Perciabosco (sustancia X) era un producto -- cristalino y recibió 20 años después el nombre de sesamolina por parte de Adriani (32). Este investigador le asignó la -- fórmula empírica $C_{20}H_{18}O_7$ y probó que por hidrólisis ácida -- producía una molécula de sesamol y un compuesto de fórmula -- empírica $C_{13}H_{14}O_5$ al que dio el nombre de samina. Böeseken, Cohen y Kip (43) mostraron que la sesamolina contiene al sesamol unido por un puente de oxígeno, como si fuese un glicó -- sido.



La estructura de la sesamolina fue establecida como 2-(3, 4-metilendioxifenoxi)-6-(3,4-metilendioxifenil)-cis-3,7 dioxabicyclo [3.3.0] octano (Fig 2), con el mismo núcleo tetrahi-

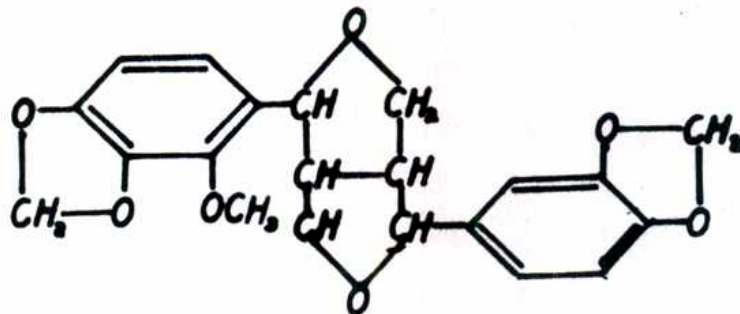
FIG 2- Estructura de la sesamolina.



dro furfurofuran que en la sesamina, difiriendo de ésta por la presencia de un puente de oxígeno entre núcleo y uno de los grupos metilendioxfenilo (44,45,46).

Un compuesto estrechamente vinculado con la sesamina fue aislado por Jones, Beroza y Becker (47) del aceite de semilla de sesamum angolense (un sésamo salvaje del norte de Rhodesia), al que llamaron sesangolina, aclarando su estructura como 2-(3,4-metilendioxfenil)-6-(2-metoxi-3,4-metilendioxfenilo)-cis-3,7-dioxabicyclo [3.3.0] octano (Fig 3).

FIG. 3- Estructura de la sesangolina



A diferencia de la sesamina, la sesamolina no ha sido encontrada en plantas que no pertenezcan al género Sesamum. La sesangolina sólo ha sido hallada en la especie angolense dentro del género Sesamum. Se afirma que sesamina y sesamolina aparecen en la semilla de S. indicum al tiempo que se forma el aceite, no encontrándoseles en partes vegetativas de la planta.

d₂- Reacciones de identificación de aceite de sésamo.

Determinación cuantitativa de sesamol, sesamolina y sesamina

Budowski y Markley (4) citan 14 reacciones coloreadas capaces de evidenciar la presencia de aceite de sésamo. Sin duda la que más ha trascendido es la reacción de Villavecchia-Fabris (31) una de cuyas versiones analíticas más difundidas es como sigue:

"Colocar 10 ml de aceite en exámen en un tubo de vidrio, agregar 10 ml de ácido clorhídrico p.a. ($d = 1,18$) y 0,15 - 0,20 ml de solución de furfural recientemente destilado al 2 % en etanol. Agitar vigorosamente por 15 segundos y dejar reposar hasta separación en dos capas y observar el color de la inferior. Si es rojo, agregar 10 ml de agua destilada; agitar, dejar reposar y observar nuevamente el color de la capa inferior. Si es rojo (ensayo positivo) se concluye la existencia de aceite de sésamo, caso contrario no. Se debe conducir un ensayo en blanco (sin aceite) que no debe producir color (caso contrario reemplazar la solución etanólica de furfural). Operando con aceites o grasas naturales la reacción permite evidenciar la presencia de 0,5 y aún 0,25 % de aceite de sésamo".

Esta reacción tiene su origen en una observación de Camoin (1850) quien describió la aparición de un color rojo cuando se agitaba aceite de sésamo con ácido clorhídrico concentrado conteniendo sacarosa. Con posterioridad Baudouin la estudió precisando detalles analíticos hasta que Villavecchia y Fabris reemplazaron la sacarosa por solución etanólica de furfural (esta modificación tuvo por objeto evitar el uso del reactivo de Baudouin (solución de sacarosa en ácido clorhí--

drico concentrado que pardea con el tiempo por carameliza---ción). Cabe señalar que en el reactivo de Baudouin el reactante es hidroximetil furfural y no furfural. La reacción de Villavecchia-Fabris ha sido objeto de muchas observaciones, discusiones y controversias (4), casi todas ellas como consecuencia del desconocimiento sobre el o los compuestos responsables de la reacción y presentes en el aceite de sésamo. - Esos compuestos son: el sesamol libre y la sesamolina (que lo libera por hidrólisis en las condiciones de la reacción) y cuyas concentraciones en los aceites dependen de factores naturales y tecnológicos.

La reacción ha sido llevada al campo cuantitativo para la determinación de sesamol (total, libre y combinado) en aceite de sésamo por Budowski, O'Connor y Field (48). En suma el aceite disuelto en isooctano se agita con solución hidroalcohólica de hidróxido de potasio extrayendo así el sesamol libre. La reacción se aplica en la siguiente forma: a) a la solución original en isooctano (sesamol total), b) a la solución original extraída como se ha señalado (sesamol combinado) y c) al extracto alcalino (sesamol libre) (las densidades ópticas se leen a 518 mm). Así han encontrado en aceites de sésamo 0,13 a 0,17 % de sesamol total, casi totalmente -- combinado (sesamolina). Cabe señalar que el mecanismo de la reacción de Villavecchia-Fabris no es conocido, ignorándose la naturaleza química del o los compuestos coloreados que se forman (49).

Budowski, O'Connor y Field (50) también han estudiado un

método espectrofotométrico para la determinación de sesamina en aceites de sésamo (medidas de absorción en U.V. a 288, 255 y 320 mm sobre soluciones de isooctano previamente tratadas para extraer sesamol libre) y que importan corrección -- por la presencia de sesamolina. En aceites crudos de sésamo encuentran 0,50 a 0,96 % de sesamina.

Más tarde Beroza y Kinman (51) estudian el efecto de la variedad y lugar de crecimiento sobre los contenidos de los aceites seminales en estos compuestos: sesamina 0,34-1,13%; sesamolina 0,31-0,51 y sesamol ~0, destacando que la variedad solamente influye sobre los contenidos en sesamina y que los daños por congelación de la semilla disminuyen sensiblemente los contenidos en sesamina y sesamolina de los aceites

d₃- Estabilidad del aceite de sésamo frente a la autoxidación

La estabilidad de los aceites de sésamo hidrogenados o no frente a la autoxidación ha sido repetidamente señalada, así como las ventajas de utilización que de ello derivan (4) (13).

Olcott y Mattil (52) sugirieron que esa estabilidad se debería a la acción antioxidante del sesamol, sin justificarlo experimentalmente. En 1950, Budouski, Menezes y Dollear (53) estudian las relaciones probablemente existentes entre los contenidos en sesamol (total, combinado y libre) con valores de estabilidad A.O.M. (horas requeridas para alcanzar el valor de estabilidad de 100 mEq/Kg) en aceites de sésamo crudos, refinados por álcali, blanqueados y desodorizados, seña

lando que a mayores valores de estabilidad corresponden mayores contenidos en sesamol libre. El blanqueo (decoloración) con tierras "neutras" o "ácidas" libera de la sesamolina la casi totalidad del sesamol combinado y aumenta la estabilidad. La desodorización de aceites previamente blanqueados elimina el sesamol libre y disminuye sensiblemente la estabilidad. La hidrogenación catalítica de aceites de sésamo aumenta la estabilidad y el contenido de sesamol libre, alcanzándose valores para éste de 0,1%. La hidrogenación, por tanto, libera sesamol de la sesamolina (hidrogenólisis).

La efectividad del sesamol como antioxidante en la preservación de grasa de cerdo fue evidenciada por Moore y Bickford (54) probando la actividad de 13 antioxidantes (concentraciones de 0,01; 0,05 y 0,1 %) en ensayos de autoxidación acelerada sobre aceite de algodón refinado, refinado hidrogenado y sobre grasa de cerdo. Al 0,01 % sólo fueron efectivos en la preservación de grasa de cerdo (en el siguiente orden de actividad): N.D.G.A > galato de propilo > β -conidendrol > sesamol > B.T.H. > B.H.A., etc. En concentraciones de 0,05 y 0,1 % el orden de actividad fue: galato de propilo > sesamol > B.H.T. > N.D.G.A., etc. (evaluaciones del tiempo en horas para alcanzar valor de peróxido de 20 mEq/Kg).

Fukuzumi e Ikeda (55,56) han determinado los períodos de inducción en ensayos de autoxidación de cis-cis linoleato de metilo, trans-trans linoleato de metilo y en la fracción conjugada (isomerización alcalina) de cis-cis linoleato, en presencia de 0,01 % de diversos antioxidantes. El sesamol fue -

menos efectivo que el galato de propilo pero más efectivo que B.H.T. y B.H.A. con la forma cis-cis; inefectivo con la forma trans-trans y tan efectivo como B.H.A. y B.H.T. (más efectivos que galato de propilo) con la forma conjugada.

La estabilidad de los aceites de sésamo tiene interés -- práctico desde larga data, en relación a su empleo como "sustancia testigo" en la elaboración de margarinas en varios -- países, europeos principalmente. Sin embargo y frente a lo -- expuesto en esta revisión, cabe pensar que la función del -- "testigo" se cumple si el aceite empleado es capaz de producir reacción positiva franca de Villavecchia-Fabris, lo que importa una razonable concentración de sesamolina o sesamol libre. (caso éste último de aceite de sésamo hidrogenado). Ello estaría asociado a un efecto protector frente a autoxidación en ciertos tipos de margarinas y posiblemente, frente a carotenos o vitamina A agregados.

No obstante la elaboración de margarinas modernas tiende a la supresión del "testigo" desde que las técnicas instrumentales modernas proveen medios rápidos y seguros para el -- descubrimiento de fraudes. Además, la moderna tecnología exige para fines alimentarios la refinación total de aceites de semilla y ello en el caso de aceites de sésamo disminuye como ha sido expuesto, la concentración de sesamol con lo cual las ventajas de estabilidad de estos aceites frente a otros aceites seminales no serían valederas. Por ello se ha llegado a proponer el agregado de sesamol a margarinas como "testigo", propuesta que exige, como es obvio, la consideración

de esta sustancia como "aditivo alimentario" en todos sus as
pectos.

d₄- Actividad sinérgica con insecticidas.

El piretro es un insecticida valioso por su acción rápida y por su baja toxicidad en mamíferos. Su costo de producción es alto y de ahí el interés en lograr sustancia de acción sinérgica. Durante la segunda guerra mundial, en 1940, Eagleson (57) describió el efecto sinérgico del aceite de sé
samo con ciertos insecticidas (rotenona, piretrinas), lo que significó una reducción del 50 % de los requerimientos en pi
retro. Se prepararon y emplearon "aerosoles" a base de piretro y aceite de sésamo en diclorodifluormetano. Una fórmula consistió de una solución al 4 % de extracto de piretro (con teniendo 20 % de piretrinas) y 6 % de aceite de sésamo en di
clorodifluormetano.

Budowsky y Markley (4) han referido la serie de trabajos que condujeron por parte de diversos investigadores a la demostración del efecto sinérgico de la sesamina y sesamolina, así como la de los isómeros ópticos de la primera. Estas investigaciones probaron que en los compuestos señalados eran indispensables las agrupaciones dioximetilénicas para mantener la acción sinérgica. La sesangolina es también activa no así el sesamol. Budowsky (29) y Lyon (13) han informado so--
bre las investigaciones realizadas para sintetizar nuevos --
compuestos orgánicos con esas agrupaciones en pro de nuevos
sinérgicos.

d₅- Otros componentes menores.

En la literatura se registran trabajos relacionados a los contenidos del aceite de sésamo en otros componentes menores comunes a la mayoría de los aceites de semilla (escualeno, -esteroles, tocoferoles).

Respecto al contenido en escualeno y según Fitelson (58) el aceite de sésamo contendría tan sólo 3 mg de ese hidrocarburo %g de aceite. En cuanto a los esteroides, Lange (59) menciona contenidos de 430 a 549 mg%g. Fedeli, Lanzani, Capella y Jacini (60) operando sobre insaponificable de aceite de sésamo (sometido a separación cromatográfica en capa delgada, aislamiento de los esteroides e identificación por CGL) mencionan en este aceite la existencia de β -sitosterol, stigmasterol y campesterol. Además, en la fracción terpenica del insaponificable identifican los siguientes alcoholes triterpénicos: cicloartenol, 24-metilencicloartenol y α -amirina.

Lange (59) y Dicks (61) citan contenidos en tocoferoles totales de 18 a 60 y 18 a 76 mg%g, respectivamente. Las cifras de Dicks, referidas a aceites de la India, China, Cuba, U.S.A., etc., presentan una mayor concentración de valores entre 25 y 60 mg%g. La misma fuente de información presenta valores significativamente más altos para algunos aceites procedentes de Rusia (102-190 mg%g). El sesamol reacciona como los tocoferoles por aplicación del método de Emmerie-Engel y consecuentemente las determinaciones por el método exigen la eliminación previa del sesamol libre. Las cifras inicialmente señaladas (18-76 mg%g) parecen dignas de crédito, toda vez que Rao, Rao y Achaya (62) determinando los tocoferoles

individualmente (previa separación en capa delgada) en aceite de la India, encuentran un total de 65 a 67 mg%g (37,6 a 40,8 % de los cuales como α -tocoferol; 60,9 a 62,7 % como γ -tocoferol, sólo trazas de δ y ausencia de β -tocoferol).

La información suministrada en esta introducción no contempla los aspectos referentes a otros componentes de la semilla y subproductos de su industrialización, temas que se exponen en la Discusión de la Parte Experimental, al considerar el aislamiento de las proteínas de harina integral de semillas de sésamo.

P A R T E I

DISCUSION DE LA PARTE EXPERIMENTAL

El objeto de este trabajo ha sido estudiar los valores de las características físicoquímicas más importantes y de composición acídica de los aceites de semilla de algunas variedades de S. indicum cosechadas en la República de Colombia, tema de escasa consideración en la literatura especializada, sobre todo en lo referente a valores de composición acídica. Un segundo aspecto se refiere a la consideración de subproductos de la industrialización de semilla de sésamo, en especial las harinas finales de extracción. A este respecto y como se expone más adelante se detallan las experiencias realizadas para el aislamiento de proteínas de ese subproducto, así como el estudio analítico y biológico de las mismas.

A) Aceites de semilla de S. indicum (procedencia Colombia)

Correspondientes a las cosechas 1971 se dispuso de partidas pequeñas de semilla madura de S. indicum, variedades: L-609 (tres partidas), L-507 (dos partidas) e Inamar, con indicación de lugar de cosecha en algunos casos.

La Tabla 4 resume rendimientos en aceite por agotamiento con hexano, algunos valores referentes a la semilla y características físicoquímicas de los aceites crudos de extracción, incluyendo los contenidos en esteroides totales. Comprende los valores correspondientes a aceite de sésamo var. Dulce cosechada en "Las Breñas" (Chaco, Argentina) y de la var. Portoviejo 1 de Ecuador (comunicación privada de la Dra. Marta De la Paz becaria O.E.A)

Los valores observados en la Tabla 4 están comprendidos dentro los extremos registrados en la literatura y mencionados en la Introducción; también comprendidos entre los extremos de la Norma Recomendada para aceite de Sésamo Comestible, Comisión del Codex Alimentarius FAO-OMS (CAC/RS 86-1969). En especial los extremos para índice de yodo son 109,0 y 116,4, (ámbito que hace pensar en composiciones acídicas no muy variables para los aceites mencionados en la Tabla 4). Merece mencionarse el estrecho margen de variación observado para los valores de índice de yodo de los insaponificables para aceites de Colombia (81,5-93,2), cifras también bajas en relación a insaponificables de otros aceites de semilla, que estarían de acuerdo con el bajo valor para N^o de escualeno (3 mg %g) señalado por Fitelson (58). Los contenidos en esteroides totales (508-587 mg %g) son también poco variables y similares a los extremos mencionados por Lange (59) (430-549 mg%g). El valor registrado para aceite de semilla de procedencia Argentina fue ligeramente menor y mayor el observado en aceite de Ecuador.

Las composiciones acídicas fueron determinadas por cromatografía de partición Gas-Líquido operando sobre esteroides metílicos de los ácidos totales libres de insaponificables (ver parte experimental).

La Tabla 5 resume los valores de composición acídica hallados, expresados en ácidos por ciento de ácidos totales (incluye, además, los valores correspondientes al aceite de la var. "Dulce" de las Breñas, Chaco, Arg. y al de la var. Porto-

Viejo 1, Ecuador).

Los valores de la Tabla 5 indican una correlación positiva entre los de índice de yodo de los aceites y de contenido en ácido linoleico (18:2). Los contenidos en ácidos saturados totales oscilan en un margen estrecho (13,3-16,5%), muy concordantes con los mencionados en la Tabla 2 (12,9-16,6%). Por el contrario, difieren sensiblemente de los extremos que surgen de la Tabla 3 (13,2-27,3%) si bien de los valores de esta última tabla, surge un grupo de aceites comprendidos entre -- (13,2-18,5%), mas acordes con los encontrados en este estudio. Los componentes fundamentales de los ácidos saturados totales son el ácido palmítico (16:0) (9,5-10,6) y esteárico (18:0) - (3,2-5,7%). Las cifras de la Tabla 5 están muy de acuerdo con los extremos propiciados por la Comisión del Codex Alimentarius que figuran en la primera columna de la Tabla 3. En consecuencia los aceites de semilla de sésamo de Colombia responden a composiciones acídicas comprendidas entre los extremos de composición propiciadas por el Programa Conjunto FAO-OMS - sobre Normas Alimentarias (CAC/RS 26-1969). En todos los cromatogramas (ver parte experimental) se registraron picos que corresponden a concentraciones muy bajas (<0,05%) de los ácidos 17:0, 17:1, 16:1, y 18:3. Desde que según la Tabla 3 existirían otros compuestos ácidos (14:0, 20:1, 22:1, 24:0 y ácidos en menos de C₁₄) se decidió hacer un exámen exhaustivo de composición acídica para verificar tales presencias.

Con este fin y partiendo (ver parte experimental) de éstos res metílicos de ácidos totales (libres de la mayor parte del

insaponificable) del aceite var. Dulce (Las Breñas, Chaco) se procedió a su fraccionamiento en vacío (0,5-1,0 Torr) en una columna de eficiencia apropiada obteniendo una serie de fracciones y un residuo de destilación, cada uno de los cuales -- fue examinado por C.G.L. Este fraccionamiento previo produce una concentración en las distintas fracciones (según peso molecular) de los ésteres de ácidos que figuran en muy bajas -- concentraciones en el total de ésteres de partida, con lo --- cual se facilita su verificación por C.G.L. Por este camino -- se calcularon las composiciones acídicas de las distintas --- fracciones y residuo de destilación y finalmente la composición de los ácidos totales del aceite considerado con los siguientes valores (% de ácidos totales).

12:0 (vest), 14:0 (0,01), 15:0 (Vest), 16:0 (8,65), 17:0 (0,03), 18:0 (5,70), 20:0 (0,66), 22:0 (0,18), 16:1 (0,08) 17:1 (Vest), 18:1 (42,92), 20:1 (0,21), 18:2 (41,56), y 18:3 (Vest).

En consecuencia se ha verificado la existencia de los --- cptes menores mencionados por FAO-OMS señalándose también la existencia de 15:0 y la ausencia de 24:0. Los valores de composición acídica exhaustiva resultaron suficientemente concordantes en los componentes fundamentales, con los hallados por C.G.L. directa de los ésteres metílicos de los ácidos totales mencionados en la Tabla 5. Así mismo, los valores de índice -- de yodo calculados en base a la composición C.G.L. fueron ---

acordes con los determinados experimentalmente.

B) Sobre el aislamiento de proteínas a partir de harina integral

Las tortas y harinas residuales de la extracción del aceite (verdaderos concentrados proteínicos) tuvieron durante años, especial interés en la formulación de raciones para animales, particularmente aves (2,5). Los primeros trabajos en tal sentido, señalaron a las harinas y tortas de semilla de sésamo como buenas fuentes de proteínas, capaces de soportar el crecimiento óptimo de pollos cuando se ingerían en conjunción con concentrados proteicos ricos en lisina. Estas conclusiones se vieron confirmadas con los resultados del análisis de sus aminoácidos esenciales: comparativamente a otras semillas de oleaginosas se la señaló como fuente importante de aminoácidos azufrados (particularmente metionina).

La limitación principal en el uso directo de los subproductos de la industria aceitera del sésamo para consumo humano es la presencia de la cascarilla, la cual además de contribuir a dar color pardo intenso y sabor amargo, incorpora apreciables cantidades de oxalato de calcio, sílice y fibra cruda. Aunque rara vez se procede al descorticado de la semilla antes de la extracción del aceite, se impone este paso en la fracción que se usa directamente en ciertos alimentos para consumo humano.

El exámen microscópico de la semilla descortificada reveló

que de las dos membranas que forman la cutícula, sólo la más externa (espermodermo) contiene los pigmentos y el oxalato de calcio, siendo suficiente su remoción para eliminar la mayor parte de esos componentes, disminuir la cantidad de fibra y - aumentar el nivel de proteínas en las harinas finales (63).

1- Sobre la composición general de las harinas residuales de extracción

Como ha sido explicado anteriormente, las harinas se obtuvieron a partir de las semillas enteras y molidas finamente, por agotamiento con hexano técnico y una vez secas al aire se remolieron y reunieron en una sola muestra. Esta última se analizó en su composición general, obteniéndose los siguientes valores:

<u>Determinaciones</u>	<u>(Sobre harina tal cual)</u>	<u>(Sobre muestra seca)</u>
Humedad %	10,01	—
Cenizas %	11,09	12,32
Fibra cruda %	5,49	6,10
N total %	8,00	8,89
Proteínas % (Nx 6,25)	50,00	55,56
Calcio (como Ca) %	1,94	2,13
Fósforo total (como P) %	1,21	1,34

De su consideración surge que es un verdadero concentrado proteínico (55,6 % S.S.S.). Teniendo en cuenta que la separación de la cascarilla no parece ofrecer mayores dificultades puede contemplarse su uso como suplemento en la formulación de alimentos para humanos.

Los valores hallados en literatura se refieren exclusivamente a harinas provenientes de semillas parcialmente descortizadas (por tamizado) o totalmente descortizadas, obtenidas en laboratorios: proteínas 51,2-67,3 %, cenizas 5,1-8,0 %, fibra cruda 2,4-7,0 % (64); proteína 60,0-80,0 %, cenizas 10,4-13,2 %, fibra cruda 2,7-3,7 %, calcio (Ca) 0,18-1,88 %, fósforo total (P) 1,74-2,56 % (11) y proteínas 53,7 %, cenizas 5,44 %, fibra cruda 5,96 %, calcio 1,15 %, fósforo 1,30 % (65). En estos trabajos se hacen notar algunas diferencias halladas -- con respecto a valores de composición de harinas comerciales corrientes: cenizas 11,5-13,0 %, fósforo total 1,45 %, fibra cruda 5,3-6,9 %, calcio 2,27-3,07 % y nitrógeno (50,6-56 % -- proteínas) 8,1-9,0 % (64) y proteína 44,0 % (11). En este aspecto los valores observados en el presente trabajo, están en buena concordancia con los hallados en literatura para las harinas del comercio y las obtenidas en laboratorio (con separación parcial de la cáscara). Es de hacer notar, no obstante, que el contenido de fósforo total resultó similar o inferior al registrado en literatura aún para harinas de semilla totalmente descortizada.

2- Experiencias sobre aislamiento y purificación de proteínas a partir de la harina integral

Se condujo una serie de experimentos previos a fin de ajustar las condiciones óptimas operatorias de acuerdo al método de extracción en medio acuoso alcalino (NaOH) y precipitación en medio ácido (HCl). Por aplicación de las técnicas que se detallan en la Parte Experimental, se observa que al valor de pH 10,5 ocurre el máximo de dispersión del material nitrogenado (82 % del nitrógeno total de la harina) y que al valor de pH 5,4 se obtiene el máximo de precipitación (pH isoeléctrico, 18,5 % del nitrógeno total de la harina soluble en el sobrenadante). Las Figuras 4 y 5 muestran las curvas obtenidas con los valores promedio consignados a continuación (nitrógeno dispersado % nitrógeno total) y (nitrógeno soluble % nitrógeno extraído) en función de los valores de pH ensayados

<u>pH</u>	<u>N dispersado %</u> <u>N total de la harina</u> <u>(valores promedio)</u>
7,5	33,30
8,0	39,05
8,5	44,96
9,0	55,85
9,5	66,71
10,0	77,70
10,5	82,00 (.)
11,0	81,45

<u>pH</u>	<u>% N soluble</u> <u>dispersado</u>
3,5	78,3
4,0	61,5
4,2	50,0
4,4	42,3
4,5	34,7
4,6	29,7
4,8	26,0
5,0	22,0
5,2	21,0
5,4	18,7 (.)
5,6	21,8
6,0	26,9

Para tener un balance cuantitativo y a los fines de complementar los ensayos previos se procedió a evaluar el contenido en nitrógeno en las distintas fracciones separadas durante el proceso de aislamiento de las proteínas. Para ello se contó con la experiencia lograda en ensayos similares con otras oleaginosas (66). A continuación se ilustran los valores obtenidos:

Etapa de dispersión- (dos extracciones sucesivas a pH 10,5 con relaciones harina: agua 1:20 y 1:10; y un lavado -- con relación 1:5 después de la primera extracción)

N extraído % N total (harina) 80,00

N de residuo % N total (harina)	16,00
N residuo (seco a 100°)	3,14

Etapa de precipitación (pH isoeléctrico: 5,4)

N soluble % N total (harina)	12,10
N soluble % N extraído	15,13
N precipitado % N total	63,65
N % proteína aislada (seca a 45°)	15,30

La cantidad de nitrógeno precipitado, calculada en base a la diferencia entre el nitrógeno total de la dispersión original y la cantidad remanente en el sobrenadante después de la precipitación (67,90 %) fue superior a la calculada - en base al peso de las proteínas obtenidas y su % en nitrógeno (63,65 %). La principal causa de pérdida fue el arrastre mecánico del precipitado finamente dividido que quedó - en suspensión (aún después de centrifugar) en la etapa de - purificación (lavado etanólico final). El coágulo de proteínas resultó de color prácticamente blanco y de consistencia compacta. Después de efectuados los lavados acuosos (dos) y etanólicos (tres) (ver Parte Experimental) sus características fueron altamente satisfactorias (inodoro, insípido, --- blanco y en forma de polvo fino) una vez seco en vacío a 45°.

Los valores analíticos obtenidos sobre la proteína aislada y seca a 45° fueron los siguientes:

Humedad 100º,(vacío) %	1,88
Cenizas (500-550º) %	0,73
Nitrógeno (macro Kjeldahl) %	15,30
Nitrógeno (en base libre de humedad y cenizas)%...	15,71

Tal como se pudo probar con los coágulos aislados de -- otras harinas de oleaginosas, de no efectuar los lavados acuosos y etanólicos, su color se vuelve pardo oscuro durante el secado.

3- Aislamiento de proteína integral en macro-escala de laboratorio

Se procedió al aislamiento de aproximadamente 1 Kg de - proteínas blancas y secas a 45º con destino a su evaluación biológica y composición en aminoácidos esenciales (15 partidas de 200 g de harina cada una). De acuerdo a la técnica señalada en el ensayo anterior, se aislaron las proteínas - sobre partidas de 200 g de harina integral, obteniendo rendimientos que oscilaron entre 64-77 g de proteína/ 200 g de harina, con un predominio de valores entre 65-69 (32,0-38,5 % sobre harina). Una vez reunidas y secas a 45º, fueron analizadas con los siguientes resultados:

Pérdida a 100º (vacío) %	5,58
Cenizas (500-550º) %	0,94

Nitrógeno (macro Kjeldahl) %	15,55
Nitrógeno (S.S.S. y libre de cenizas) %	16,63
Calcio (como Ca) %	0,0046
	(4,6 mg%g)
Fósforo total (como P) %	0,38
Acido fítico (como P) %	0,21

No contando con antecedentes al respecto para proteínas aisladas de semilla de sésamo, surge de la comparación de los valores obtenidos con los de composición de la harina de partida, un incremento al doble de su contenido en N total y una notable disminución en el tenor de materias minerales (aproximadamente 1/10 del registrado en la harina). En la separación del aislado proteico final, el nivel de calcio se reduce aproximadamente 400 veces con respecto al de la harina de partida.

Purificación del coágulo de proteínas-lípidos asociados en los extractos etanólicos

En el curso de esta experimentación fue también propósito aprovechar los extractos etanólicos en la purificación de las proteínas precipitadas para conocer su composición a cáldica, ya que la naturaleza del material predominante en los mismos sería del tipo lipídico.

El residuo de las extracciones etanólicas reunidas, con

centrado en vacío a menos de 50° (rotavapor), fue tomado por éter etílico, filtrado y llevado a peso constante a 100° en vacío. Rindió 44,17 g de lípidos para 1.008,31 g de proteínas secas a 45° (4,38 %) y presentó las siguientes características:

Nº de acidez (mg KOH/g)	149,4
Índice de yodo (Wijs)	109,2
Índice de saponificación	179,3
Insaponificable %	5,10
	(0,22% sobre proteína seca a 45°)
Índice de yodo del insaponificable (Rosenmund)	71,1
Ácidos totales (por saponificación) %	80,28
	(3,59% sobre proteína seca a 45°)
Fósforo lipídico total (como P) %	0,20
	(9,4mg% sobre proteína seca a 45°)
Esteroles totales (sobre insaponificable) (67)	358mg%
	lípidos (15,7 mg% sobre proteína seca a 45°)

Los ácidos totales obtenidos por saponificación liberados de insaponificable y convertidos en sus esteres metílicos, revelaron la siguiente composición acídica al ser analizados por cromatografía gas-líquido (ver Parte Experimental) (Fig 6): 12:0 (0,2); 16:0 (8,8); 16:1 (0,1); 18:0 (3,8) 18:1 (36,0); 18:2 (51,1) y rastros de 14:0 y 17:0 (% de ácidos totales). Esta composición incluye los componentes mayo-

res y menores señalados anteriormente para aceite seminal.

Ensayos biológicos (.)

a)- Composición en aminoácidos esenciales- Se obtuvieron los siguientes valores (g/16 gN) sobre proteína aislada seca a 45° (vacío):

Lisina	1,9
Lisina disponible	1,7 (% de <u>li</u> sina disponible: 89,5)
Metionina	3,2
Metionina disponible	2,4 (% de <u>me</u> tionina disponible: 75,0)
Treonina	2,7
Valina	3,2
Fenilalanina	2,9
Leucina	5,6
Isoleucina	2,9
Triptofano	1,5
Histidina	1,8
Arginina	8,4

(.) Resultados logrados en los Laboratorios del Dpto de Bromatología y Nutrición Experimental (Fac. de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires).

Se obtuvieron los siguientes valores sobre la harina integral utilizada como material de partida para la obtención del aislado proteico (g/16 gN):

Lisina	2,2
Lisina disponible	—
Metionina	3,5
Metionina disponible	—
Treonina	2,9
Valina	4,2
Fenilalanina	3,2
Leucina	6,0
Isoleucina	3,2
Triptófano	1,6
Histidina	2,1
Arginina	9,3

b)- Valor nutritivo del aislado proteico (ratas)

Utilización Proteica Neta, UPN (op)	33,0±0,75
Digestibilidad, D	90,0
Valor Biológico, V B	36,8
Número Químico (.) (68,69)	26,1
Relación de Eficiencia Proteica, REP	1,21(ca- seina: 2,50)

La comparación de los valores observados en aminoácidos esenciales en la harina de extracción y en el aislado proteico final, mostró un decrecimiento en todos ellos para este último (alrededor del 20 %) posiblemente ligado a pérdidas por solubilidad en el medio acuoso durante las etapas de extracción y precipitación de las proteínas.

Desde que no se tienen referencias sobre composición en aminoácidos esenciales de aislados proteicos de semilla de sésamo, solo las harinas de extracción permiten la comparación de los valores logrados con los hallados en literatura.

De acuerdo a la Tabla 6 los valores obtenidos (primera columna), están comprendidos entre los mencionados en literatura y revelan a la proteína de sésamo como deficiente primariamente en lisina, en concordancia con todas las referencias de literatura. Así mismo, los valores hallados para el aislado proteico lo señalan como deficiente en lisina (primer limitante), comparado con el requerimiento en este aminoácido señalado por Mc Laughlan y col (69) y deficiente en isoleucina y treonina (segundos limitantes), con un nivel de limitación similar, en relación a los valores mencionados por Rama Rao (73). A este respecto, Kik (65) señala la influencia de los niveles de lisina y treonina en el Valor Biológico de las proteínas de sésamo, valor que mejora en ensayos -

$$\begin{aligned}
 (.) \text{ Número Químico} &= \frac{\text{Contenido de lisina } \%}{\text{Requerimiento de lisina}} = \frac{1,7 \times 100}{6,50} \\
 &\text{para la rata en crecimiento}
 \end{aligned}$$

de suplementación con ambos aminoácidos.

El bajo valor nutritivo de la proteína de sésamo en ensayo (para la rata en crecimiento) en base a los valores de --UPN y REP, queda justificado por la severa deficiencia en lisina. El valor de UPN (op) (33,0) está en estrecha concordancia con el citado por Sabry (71) (32,0) para proteína de harina de extracción, no obstante haber registrado este investigador un valor de REP mucho más bajo (0,67). Otros valores citados en literatura son similares (REP: 1,84-1,35) (65) o bien superan los hallados en este trabajo (REP: 1,70) (UPN: 55) (74) (13).

La literatura señala igualmente que la fortificación con lisina e isoleucina incrementa el valor nutritivo de la proteína (13).

El valor de digestibilidad, comparativamente al hallado en literatura para la proteína de la harina (83-87 %) (65) resultó levemente incrementado en el aislado proteico obtenido (90 %).

P A R T E II

PARTE EXPERIMENTAL

Estudios sobre aceites de semilla de Sésamo

1) Materia prima.

Se dispuso de tres partidas de semilla madura de la variedad L-609, dos partidas de la variedad L-507 y una de la variedad Inamar, todas ellas de aproximadamente 20 a 900g, - remitidas desde Colombia por el Ing. Agr. Bayardo Villegas V. (Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias del Instituto Nacional Agropecuario) o logradas por mediación del Dr. Ricardo Fernández Dorr (Oficina Comercial de Colombia en Buenos Aires). Estas variedades son algunas de las de mayor difusión en los cultivos de Colombia. Paralelamente se logró - una partida de aproximadamente 4 Kg. de semilla madura de sésamo de la variedad Dulce cosechada en la Estación "Las Breñas", provincia de Chaco, Argentina. Todas las partidas corresponden a cosechas 1970-1971.

2) Características de la semilla y obtención de los aceites crudos.

Previamente a la extracción de aceites se determinaron - algunas características de la semilla (peso/Hl y humedad). Operando sobre el total de semilla disponible de las variedades de Colombia se procedió a su molienda y agotamiento en - Soxhlet con hexano técnico, durante aproximadamente 15 horas. Al cabo, la semilla se dejó orear al aire, remolió finamente

y agotó exhaustivamente en el mismo equipo. De los extractos se recuperó el sobrenadante por destilación a baño de agua - hirviendo y los últimos restos del mismo se eliminaron por arrastre con vapor de agua. El producto residual, tomado por éter etílico, se trató en ampolla de decantación con solución acuosa semisaturada de Na_2SO_4 . La capa etérea, deshidratada con Na_2SO_4 anhidro se filtró, lavando ampolla, embudo y filtro con éter etílico. De los líquidos etéreos reunidos se recuperó el solvente por destilación a baño maría y los aceites crudos residuales se llevaron a constancia de peso en estufa de vacío (0,5 Torr-100°), calculándose los rendimientos sobre semilla tal cual y sobre semilla seca. La Tabla 7 resume los valores observados en estas extracciones. Todos los aceites crudos se envasaron en ampollas de vidrio sin espacio muerto apreciable y estacionaron a -15° hasta su examen analítico.

3) Características fisicoquímicas de los aceites crudos.

Sobre todos ellos se determinaron: Índice de yodo (Wijs) (A. O. C. S. Official Method Da 15-48), Índice de refracción a 25° (A. O. C. S. Official Method Cc 7-25), Densidad relativa 25/40° (picnómetro), Número de acidez (I. U. P. A. C. 11. D. 1, sobre 0,5 g de aceite), Insaponificable total (A.O.C.S Ca 6b-53, adaptado a los líquidos residuales de la determinación de índice de saponificación), Índice de yodo del insaponificable (Rosenmund) y Esteroles totales (75) (digitonina).

En la Tabla 4 se resumen los resultados obtenidos para estas determinaciones.

4) Aislamiento de ácidos totales libres de insaponificable.

Operando sobre los líquidos remanentes de la titulación de los ensayos de índice de saponificación (realizados sobre aproximadamente 2 g de aceite añadidos de 25 ml de solución de KOH al 40 % en etanol de 96 %) se procedió a la dilución con 40 ml de agua y a la extracción del material insaponificable según el método ya mencionado. Las capas hidroalcohólicas conteniendo los jabones reunidas con los líquidos acuosos alcalinos resultantes de la purificación de los extractos etéreos (conteniendo los insaponificables) se acidificaron (pH 4; heliantina), extrayendo exhaustivamente los ácidos liberados mediante 3 extracciones con aproximadamente 40 ml de éter etílico por vez. Los extractos etéreos reunidos se lavaron a fondo con agua (reacción neutra al tornasol de líquido de lavado), trataron por sulfato de sodio anhidro, filtraron y recuperó el éter a baño de maría eliminando las últimas porciones con suave soplado de nitrógeno en caliente. En estas experiencias no se determinó el contenido particular de ácidos totales de cada aceite, por no ser ello necesario en las determinaciones de composición acídica por C.G.L. (En algunos casos las operaciones se condujeron en forma --- cuantitativa, logrando esos valores).

5) Obtención de ésteres metílicos de ácidos totales.

El total de ácidos totales de cada aceite se hirvió a reflujo por dos horas con 10 ml de metanol puro conteniendo -- 1,5 % en peso de H_2SO_4 como catalizador (19). Luego de en---friar se diluyó con 20 ml de H_2O y extrajo exhaustivamente - en ampolla por dos veces con 50 ml de éter etílico por vez. Los extractos etéreos reunidos se lavaron con H_2O (hasta reac- ción neutra al tornasol), con solución diluída (0,5 %) de -- carbonato de potasio en agua (eliminación de ácidos no este- rificados) y finalmente con agua. Después se recuperó el éter por destilación al baño de agua hirviendo y los ésteres obte- nidos se estacionaron en ampollas de vidrio cerrada a la lám para a -15° hasta su exámen por C.G.L. (este medio de este- rificación asegura rendimientos de esterificación superiores al 99 %).

6) Determinación de composiciones acídicas por C.G.L. de ésteres metílicos de ácidos totales.

Se determinaron empleando un equipo Perkin-Elmer Vapor - Fractometer- Mod 154, equipado con detector de llama, colum- na de vidrio de 3 metros por 4,5 mm de diámetro interno, con material de relleno formado por Chromosorb W lavado ácido -- (60-80) y adipato de etilen-glicol poliéster (15 % sobre re- lleno total). Se operó a 200° empleando nitrógeno "4 bandas" como fase móvil con presión de entrada de 16 psi, atenuación

256 y con inyecciones de 2 a 4 microlitros de solución de ésteres al 5 % en éter etílico. Los picos se identificaron a través de sus tiempos de retención y los valores encontrados se obtuvieron por triangulación.

Las respuestas cuantitativas han sido suficientemente -- comprobadas en experiencias anteriores a través de la cromatografía de mezclas de ésteres metílicos de ácidos grasos de composición conocida, verificando la concordancia de resultados para la determinación de los ácidos linoleico y linolénico por C.G.L. y por exámen espectrofotométrico luego de isomerización alcalina (A.O.C.S. Method Cd 7-58, 1960) y por determinación del contenido en ácidos saturados totales según el método de Bertram. En los análisis del presente estudio se procedió al cálculo de los valores de índice de yodo de los aceites en base a las composiciones acídicas encontradas teniendo en cuenta los contenidos en ácidos totales y en insaponificable y los valores de índice de yodo de estos últimos. Se observaron cifras suficientemente concordantes con las logradas por determinación según Wijs.

La Tabla 5 resume las composiciones acídicas encontradas y en la Tabla 8 se consignan los valores de índice de yodo de los aceites, obtenidos experimentalmente y por cálculo en base a las composiciones acídicas por C.G.L. La Fig 7, a modo de ejemplo, representa el cromatograma de los ésteres metílicos de los ácidos totales del aceite var. L-507 (Espinal).

7) Composición acídica exhaustiva de aceite de semilla de sésamo, var. Dulce.

Aproximadamente 24 g de ésteres metílicos de ácidos totales libres de la mayor parte del insaponificable del aceite var "Dulce" (Chaco), se destilaron fraccionadamente en vacío (0,5-1,0 Torr) en equipo según Longenecker (75) (eficacia 12 platos teóricos, medida con mezcla benzol-tetracloruro de -- carbono, según Mc Cabe y Thiel) (76). Se obtuvieron 8 fracciones y un residuo de destilación (logrado por lavado etéreo -- de la columna, triángulo separador y balón, una vez concluida la destilación). Las fracciones y el residuo se pesaron y este último se saponificó y resolvió en insaponificable residual y ácidos grasos libres de insaponificable, que se reesterificaron con metanol. Cada fracción de destilación y los ésteres así obtenidos del residuo se examinaron por C.G.L., según se ha explicado. Las Fig 8 a 16 se refieren a los cromatogramas respectivos. La Tabla 9 resume la marcha de la -- destilación fraccionada y la Tabla 10 consigna las composiciones acídicas (% de ácidos totales en fracción) calculadas. Con los valores de esta última tabla y teniendo en cuenta el valor porcentual de cada fracción, se calculó la composición exhaustiva de los ácidos totales del aceite, mencionada en -- la Discusión de la Parte Experimental.

Estudios sobre harinas de extracción y aislamiento de proteínas.

1) Obtención de muestras. Análisis de su composición general.

Las harinas resultantes de la extracción con hexano técnico, secas al aire y finalmente en estufa de vacío a 45-50° (eliminación del solvente remanente) se remolieron y juntaron en una sola muestra. Sobre ella se determinaron los contenidos de: humedad, cenizas, nitrógeno total y fibra cruda % de producto tal cual, de acuerdo a las siguientes técnicas

Humedad- Se efectuó sobre aproximadamente 1-2 g de muestra, en estufa de vacío a 100°, hasta peso constante. (A.O.A.C. Official Method 13.3-1950).

Cenizas- Se obtuvieron por incineración de aproximadamente 1-2 g de muestra, en mufla a 500-550° hasta lograr un residuo prácticamente blanco y de peso constante. (A.O.A.C. Official Method 13.6-1950).

Nitrógeno total- Se operó sobre 0,2 g de muestra según el macro método de Kjeldahl (A.O.A.C. Official Method 2.24-1950), efectuando la digestión con mezcla H_2SO_4 , $CuSO_4$ y K_2SO_4 .

Fibra cruda- Se realizó sobre el material previamente agotado por hexano, según lo indicado para aplicar la técnica A.O.A.C. (Official Method 22.038-1965).

2) Ensayos previos de aislamiento de proteínas. Ajuste de las condiciones óptimas de extracción y precipitación.

Equipos y reactivos-

En los ajustes de pH se usaron soluciones de NaOH o HCl 5 N y las respectivas soluciones diluídas. Se controlaron -- los valores de pH con electrodo de vidrio (pHmeter E 396 B-Methrom). La temperatura durante la extracción del material nitrogenado se mantuvo a 30º con baño termostático. La precipitación de proteínas se efectuó a temperatura ambiente (20-25º).

En las etapas de extracción y precipitación se utilizó - un agitador mecánico de vidrio y en las separaciones por centrifugación, se usó centrifuga Junior Universal III S.

3) Técnica de dispersión de proteínas. Elección del pH de extracción-

En balón de 3 bocas, provisto de agitador, se colocaron 5 g de harina y suspendieron en 100 ml de agua destilada (relación harina: H₂O 1:20). Se agitó durante 1 hora a 30º, manteniendo el valor del pH de extracción a ensayar (7,5; 8,0; 8,5; 9,0; 9,5; 10,0; 10,5 y 11,0) con solución de NaOH 5 N. El conjunto se transvasó a matraz aforado (500 ml), decantándolo a través de tela metálica de acero inoxidable (200 mallas/ cm). El residuo se lavó por agitación con 25 ml de H₂O destilada ajustada previamente al pH de extracción y se centrifugó durante 20 minutos a 2.800 rpm. El líquido sobrenadante se agregó al separado en la primera extracción.

Se operó una segunda extracción similar a la primera ---

(con relación harina: agua 1:10), reuniendo el líquido extraído a los anteriores y llevando finalmente a volumen (500 ml)

Se midieron alícuotas (por duplicado) para determinar el nitrógeno extraído a los valores de pH ensayados. Los valores promedio obtenidos para nitrógeno dispersado % de nitrógeno total (sobre harina) se utilizaron para el trazado de la curva de la Fig 4.

4) Técnica de extracción de proteínas y elección del pH de máxima precipitación (punto isoeléctrico).

En balón de 3 bocas, provisto de agitador, se colocaron 30 g de harina que se suspendieron en 600 ml de agua destilada previamente ajustada a pH 10,5 (máxima extracción) correspondiendo a la relación harina: agua 1:20. Se agitó durante 1 hora a 30°, manteniendo el pH de dispersión al valor antes señalado, por agregado de alcali. Se trasvasó a tubos de centrífuga y centrifugó durante 30 minutos a 2800 rpm. -- El líquido sobrenadante (de color parduzco), se trasvasó a recipiente aforado decantándolo a través de tela metálica de acero inoxidable (200 mallas/ cm). El residuo se lavó por agitación con 150 ml de agua destilada previamente ajustada al mismo pH, se centrifugó nuevamente (20 minutos a 2800 rpm) y el líquido decantado, pasado por malla, se reunió al anterior.

El residuo se pasó nuevamente al balón de extracción, -- donde se precedió a dos nuevas extracciones sucesivas del ma

terial nitrogenado, conducidas en las mismas condiciones operatorias, pero con relaciones de harina: agua 1:5 y centrifugando al final de cada extracción. No se efectuaron lavados al residuo después de cada extracción.

Los líquidos sobrenadantes provenientes de las tres extracciones y del lavado reunidos, se llevaron a volumen con agua destilada (1.500 ml) y sobre alícuotas se determinó -- (por duplicado) el nitrógeno extraído. El líquido remanente se fraccionó en alícuotas de igual volumen (colocadas en vasos de precipitado) para operar por agregado de HCl 5 N (ajuste final con HCl diluído) la precipitación de proteínas a distintos valores de pH, cubriendo el ámbito 3,5 a 6,0.

Los precipitados se separaron por centrifugación (30 minutos a 2.800 rpm), lavando en todos los casos con la misma cantidad de agua ajustada previamente al pH correspondiente (30 ml) y los líquidos sobrenadantes se decantaron en matraces aforados (250 ml).

Los precipitados se lavaron por agitación (dos veces) -- con agua destilada ajustada al pH respectivo (30 ml cada lavado), centrifugando luego para separar los líquidos sobrenadantes. Estos últimos se llevaron a volumen y se midieron alícuotas para determinar el nitrógeno sobrenadante para cada valor de pH. Esta experiencia se repitió para cubrir el ámbito de valores de pH antes mencionado.

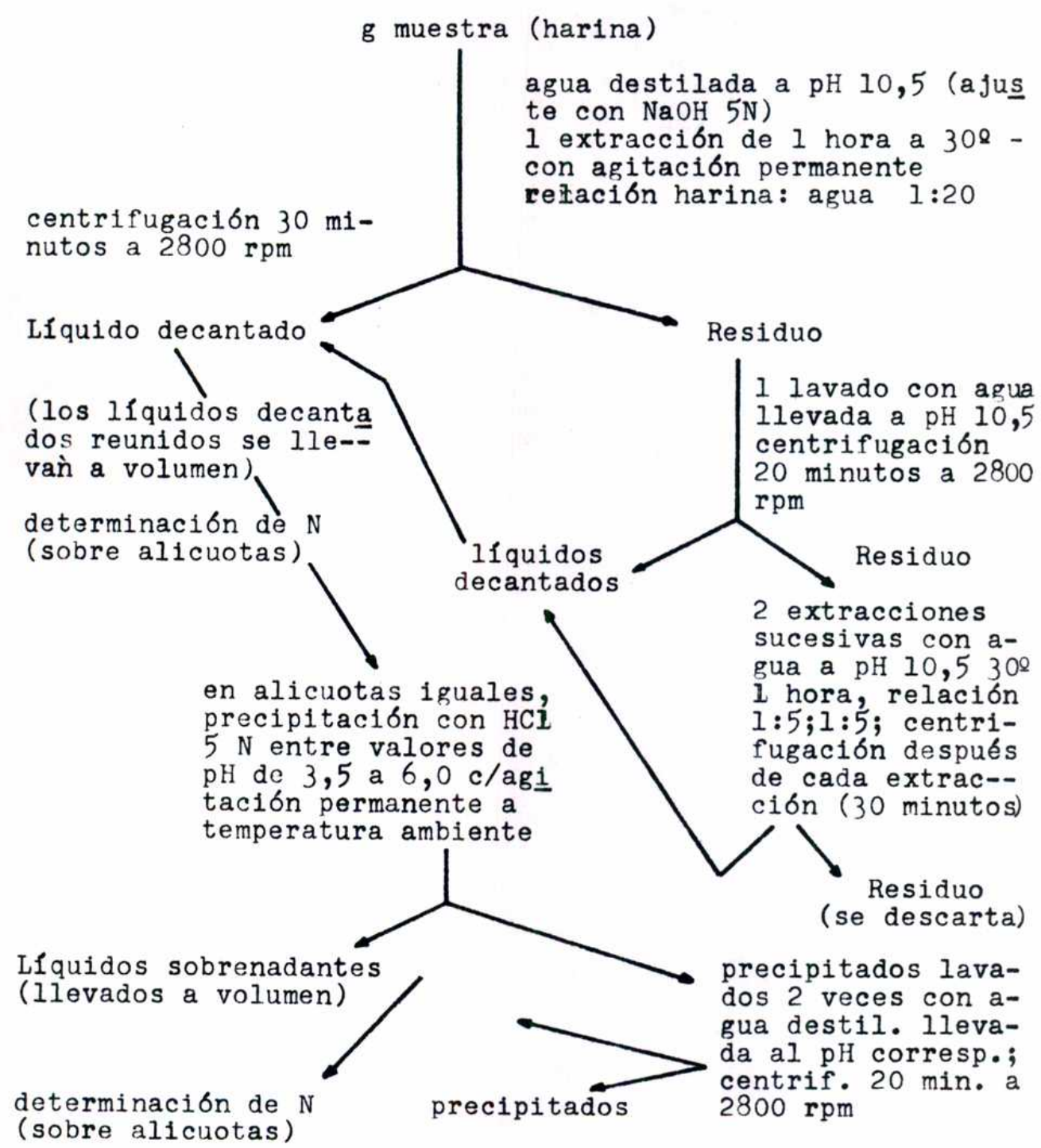
Los coágulos presentaron consistencia compacta y color crema. Una vez secos en estufa de vacío a 45° el color resultó pardo intenso (ese color se intensificó a medida que pro-

siguió el secado).

Los datos obtenidos, consignados en la Fig 5, muestran el porcentaje de nitrógeno soluble (sobrenadante), en función de los valores de pH, registrando un valor mínimo a pH 5,4 (máxima precipitación).

A continuación se presenta un esquema general del procedimiento descrito:

Esquema general para la extracción de proteínas a partir de harinas de sésamo y precipitación a diferentes valores de pH (elección del pH de máxima precipitación)



5) Balance de la distribución del nitrógeno total en harina en el proceso de aislamiento de proteínas.

Una cantidad adecuada de harina (20 g) se dispersó en agua ajustada al pH óptimo de extracción preelegido (10,5) en la relación harina: agua, 1:20. La mezcla fue agitada por 1 hora a 30° reajustando el pH cuando era necesario. Se centrifugó y decantó el líquido sobrenadante a través de tela de acero inoxidable (200 mallas/ cm) recogiendo en matraz aforado. Sobre el residuo se practicó un lavado acuoso con relación harina: agua, 1:5 (pH 10,5) y luego una extracción -- más con agua a pH 10,5 en la relación harina: agua, 1:10, separando el material extraído como se detalla en el esquema anterior. Los líquidos reunidos se llevaron a volumen. Sobre una alícuota se determinó nitrógeno extraído y el resto se ajustó al valor de pH elegido como de máxima precipitación, separando el coágulo proteico por centrifugación. Después de decantar el líquido sobrenadante en matraz aforado, el precipitado de proteínas crudas se lavó 2 veces por agitación con agua destilada ajustada previamente al valor de pH correspondiente, centrifugando después de cada lavado. Sobre los líquidos sobrenadantes reunidos y una vez llevados a volumen, se determinó el nitrógeno sobrenadante.

Las proteínas así lavadas se extrajeron por 3 veces con etanol 96 % (3 lavados sucesivos a temperatura ambiente, por agitación a fondo) usando la relación g proteína seca: ml -- solvente 1:20. Los extractos etanólicos separados por centri

fugación se juntaron y evaporaron en vacío parcial (rotavapor) a 50° quedando un residuo sólido de color parduzco. Sobre las proteínas purificadas, previamente secadas a 45° se determinó el contenido de nitrógeno.

6) Estudios de la fracción separada en los extractos etanólicos.

El residuo de los extractos etanólicos se tomó por éter etílico y filtró a través de papel embebido en éter etílico. Una vez evaporado el solvente y llevado a peso constante en estufa de vacío a 100° se determinó el rendimiento del material lipídico (lípidos asociados a las proteínas precipitadas) por pesada del residuo.

Sobre una alícuota del mismo y previa saponificación con KOH alcohólico, se extrajo la fracción insaponificable (éter etílico), determinando su porcentaje por pesada después de eliminado el solvente por destilación en baño de agua hirviente y posteriormente en estufa a 100° (vacío).

A partir de la capa hidroalcohólica remanente se obtuvieron los ácidos totales que se transformaron en ésteres metílicos por esterificación con metanol y H₂SO₄. El examen por cromatografía gas-líquido permitió determinar su composición ácida empleando un equipo Perkin-Elmer "Vapor Fractometer" Mod. 154, equipado con detector de ionización de llama, columna de dos metros de largo y de 4,5 mm de diámetro interno con material de relleno formado por Chromosorb G-HP (80-100)

y adipato de polietilenglicol (14 % sobre relleno total). Se operó a 200°, usando nitrógeno "4 bandas" como fase móvil y con inyecciones de 2-4 μ l de la solución de ésteres metílicos al 5 % en éter etílico. Los componentes acídicos se identificaron según sus tiempos de retención y los valores de composición se obtuvieron por triangulación, expresando los resultados en ácidos % de ácidos totales en extracto etanólico. - La Fig 6 reproduce el cromatograma logrado.

7) Determinación de fósforo.

La técnica que se describe a continuación, se aplicó a la determinación de fósforo lipídico en el extracto etanólico de proteína (purificación) y de fósforo total en las proteínas finales aisladas y en la harina de extracción (material de partida).

Soluciones y reactivos: Se prepararon con drogas p.a. y agua bidestilada.

H₂SO₄ conc (d=1,84)

HNO₃ 65 %

Urea

Agua bidestilada

Sol. H₂SO₄ 10 N y sol. molibdato de amonio 5 %

Reactivo de Fiske-Subbarow (preparado por agregado de 0,5 g de Na₂SO₃ a una solución de 15 g de NaHSO₃ en 80 ml de agua bidestilada y completando a volumen de 100 ml; a esta solución se agregó 0,25 g de ácido 1-amino, 2-naf

tol, 4-sulfónico, agitando enérgicamente con agitador magnético durante 10 minutos. Se dejó en reposo 30 minutos, agitó nuevamente y filtró por papel. Se conservó en frasco caramelo de buen cierre).

Técnica:

Destrucción de materia orgánica: para la determinación de fósforo lipídico se midió una alícuota correspondiente a 0,1000 g de residuo soluble en Cl_3CH (proveniente de los extractos etanólicos del lavado de las proteínas, tomados por Cl_3CH y filtrados). Para la estimación de fósforo total en proteínas finales y en harina de partida se pesó una cantidad conveniente, de acuerdo con una tentativa "a priori" de posible contenido en fósforo. Se adicionaron 3,5 ml de H_2SO_4 concentrado (d 1,84) y 1 ml de HNO_3 65 %. Se calentó cuidadosamente hasta aparición de humos blancos, enfriando antes de agregar una nueva y pequeña cantidad de HNO_3 y calentando luego hasta el comienzo de vapores sulfúricos (blancos). Este tratamiento se repitió hasta lograr un líquido límpido e incoloro (estado final de la destrucción de materia orgánica). Se agregó 1,0 ml de agua bidestilada y unos cristallitos de urea, llevándose nuevamente por calentamiento hasta la aparición de vapores sulfúricos (eliminación de restos de ácido nítrico y descomposición de compuestos de nitrosilo, eventualmente formados). El producto de la mineralización se trasvasó a matraz aforado de 50 ml llevando al volumen correspondiente con agua bidestilada.

Paralelamente se condujo un ensayo en blanco en igualdad

de condiciones. La cantidad de H_2SO_4 concentrado, fijada por anticipado a la destrucción, se calculó aproximadamente, para asegurar que 4 ml de la solución resultante llevada a volumen contuviese una cantidad del orden de 0,5 ml de H_2SO_4 10 N (condición requerida en el desarrollo de la reacción colorimétrica).

Reacción colorimétrica: Se procedió a la valoración de fósforo total según la técnica de Bartlett (77) sobre el producto de la mineralización anterior, en el siguiente orden:

- medición del blanco de la muestra (efectuado con distintas alícuotas iguales o menores a 4,00 ml) en tubos de 15 ml de capacidad.
- agua bidestilada hasta completar 2,00 ml de volumen total, si las alícuotas medidas fueron menores.
- H_2SO_4 10 N, cantidad necesaria estimada para completar 0,50 ml.
- agua bidestilada hasta completar volumen total de 4,60 ml.
- solución de molibdato de amonio: 0,20 ml.
- solución de Fiske-Subbarow: 0,20 ml.

Los tubos tapados con una bolita de vidrio, se colocaron en baño de agua hirviente durante 7 minutos. Se enfriaron y se leyó la absorbancia en cúbetas de vidrio de 1,000 cm de espesor en espectrofotómetro (Zeiss, P M Q II) a 830 $m\mu$, usando agua destilada como referencia. Los contenidos en fósforo total se calcularon en base a la curva de calibrado lograda con solución patrón de KH_2PO_4 (200 γ P/100 ml), operando en igualdad de condiciones.

Los resultados se expresaron como fósforo total % extracto etanólico, % proteína seca a 45° ó % harina de extracción de partida.

Determinación del fósforo de ácido fítico

La técnica que se detalla a continuación (78, 79) permitió valorar el contenido en ácido fítico en las proteínas -- aisladas (secas a 45°) y no en la harina de partida, ya que en este último caso se observó la probable presencia de interferentes (turbidez, punto final dudoso y elevado consumo de reactivo).

Soluciones y reactivos: En la preparación se usaron drogas p.a.

- solución HCl 2 %
- solución salicilato de sodio 10 %
- solución FeCl_3 conteniendo Fe^{+++} entre 0,050 y 0,200 %
- solución 0,1 M sal disódica del E.D.T.A.
- solución ácido sulfosalicílico (5:95)

Técnica:

De acuerdo con ensayos previos exploratorios se extrajeron cantidades convenientes de muestra con 200 ml de HCl 2 % en matraz de 500 ml durante 1 hora, con agitación permanente (agitador magnético) y a temperatura ambiente. Se centrifugó durante 20 minutos a 27800 rpm filtrándose luego el sobrenadante (papel plegado) para obtener un líquido transparente. Del filtrado se midió 50 ml en Erlenmeyer de 500 ml, añadién

dose 116 ml de agua destilada para llevar la concentración final en HCl a 0,6 %. Se calentó a 70-80° y se agregó 5 ml de solución de salicilato de sodio al 10 %, como indicador. Se valoró con solución de FeCl₃ (previamente valorada por titulación directa con solución 0,1 M de sal disódica del ácido EDTA, usando solución de ácido sulfosalicílico como indicador) (80).

Paralelamente se condujo un blanco en las mismas condiciones, con 50 ml de HCl 2 %. Los valores de ácido fítico se calcularon en base a la relación de 4 átomos de Fe para una molécula de ácido fítico (Fe₄P₆C₆H₆O₂₄) (81,82).

Los resultados se expresaron como fósforo de ácido fítico % de proteína aislada seca a 45°.

8) Determinación de calcio.

Se efectuó de acuerdo a la técnica señalada en A.O.A.C. (1965) sobre la harina de extracción y sobre las proteínas finales secas a 45°. Los resultados se expresaron en mg Ca % g de muestra.

Evaluación biológica del aislado proteico

a) Valoración de aminoácidos esenciales:

Se utilizó el método microbiológico de Steel, Sauberlich Reynold y Bauman (83) modificado por Cottely y Basualdo (84)

Las cepas empleadas fueron Leuconostoc mesenteroides ATCC-8042, para lisina, leucina, isoleucina, fenilalanina y tirosina; Streptococcus faecalis ATCC-8043 para valina y treonina y Lactobacillus plantarum ATCC-8014 para triptofano. También se valoraron arginina e histidina utilizando L-mesenteroides.

Metionina disponible: Se utilizó el método microbiológico de Ford (85,86) empleando como microorganismo de ensayo Streptococcus zymogenes NDCO-592.

Lisina disponible: Fue determinada por aplicación del método de Carpenter modificado (87, 88).

b) Utilización Proteica Neta: UPN (op 10 %)

Se utilizó el método de Miller y Bender (89) empleando 16 ratas de la cepa Wistar de alrededor de 60 g de peso y 30 días de edad al comienzo de la experiencia. Se formaron 4 lotes de los cuales 3 se alimentaron con la dieta problema --- (proteína aislada de sésamo al 10 %) y uno con dieta libre de proteínas. En la Tabla 11a se detalla la composición de las dietas correspondientes. El valor de nitrógeno corporal para el cálculo del UPN (op 10 %), fue obtenido por medio de la ecuación que representa la relación N/H₂O (f) edad, que para la cepa de ratas utilizada fue la siguiente:

$$Y = 2,76 + 0,0293 X$$

donde Y representa la relación N/H₂O y X la edad en días (90)

c) Digestibilidad:

Se determinó simultáneamente con el ensayo anterior, de acuerdo a la técnica de Miller y Bender (89).

d) Relación de Eficiencia Proteica: (REP)

Se determinó de acuerdo al método de Campel (91). Se utilizaron 16 ratas, 8 machos y 8 hembras de aproximadamente 60 g de peso y 30 días de edad, a las que se agrupó en dos lotes (A y B) con un total de 4 machos y 4 hembras por lote. El lote A fue alimentado con la dieta en ensayo (proteína -- aislada de sésamo al 10 %) y el lote B (control) con una dieta de caseína al 10 %. La composición de las dietas utilizadas figura en la Tabla 11b. Se registró el peso semanalmente y el consumo diariamente. En el cálculo del REP se tuvieron en cuenta solamente los registros correspondientes a las ratas macho tanto en el lote problema como en el control. El valor que le correspondió a la dieta problema fue corregido con respecto al de la caseína llevado a 2,50.

P A R T E III

C O N C L U S I O N E S

El objeto de este trabajo ha sido, principalmente, el estudio de rendimientos, características fisicoquímicas y composición acídica de aceites de semillas S. indicum (sésamo) de algunas de las variedades de mayor difusión en la República de Colombia. Como complemento y disponiendo de cantidad suficiente de harina de extracción se consideró el aislamiento de proteínas y su examen químico-biológico. De la experimentación realizada se puede concluir:

1) Que la semilla de las var. L-609, L-507 e Inamar, contienen 54,5 a 57,7 % de aceite (hexano) sobre semilla seca, cifras acordes con los contenidos en aceite registrados en la literatura.

2) Que los aceites crudos presentan valores de las principales características fisicoquímicas que responden a los extremos mencionados en la bibliografía y en el Proyecto de Norma Internacional para el Aceite de Semilla de Sésamo propiciado por la Comisión del Codex Alimentarius FAO-OMS. En especial se destaca que los valores de Índice de yodo (Wijs) oscilan en un ámbito estrecho (109-116,4); posiblemente debido a poca variación de las condiciones climáticas de las zonas de cultivo.

3) Que las composiciones acídicas encontradas por CGL -- (% de ácidos totales) señalaron a los ácidos oleico (35,0-41,6 %) y limoleico (42,9-49,5 %) como componentes mayores, siguiendo en orden de concentración el ácido palmítico (9,5-10,3 %) y el ácido esteárico (3,2-5,9 %). Los cromatogramas revelaron en todos los casos la presencia de los siguientes

ácidos en concentraciones menores de 0,3 % o en el orden de las trazas: 20:0, 18:3, 17:0, 17:1 y 16:1. Las composiciones acídicas encontradas son acordes con la mayor parte de las registradas en la literatura y responden a los extremos propiciados por La Comisión Mixta FAO-OMS para aceite de Semilla de Sésamo.

4) Que un exámen de composición acídica exhaustiva (combinación de destilación fraccionada de ésteres metílicos y estudios CGL de cada fracción) permitió evidenciar la existencia en concentraciones pequeñas de los siguientes ácidos, además de los ya mencionados: 12:0, 14:0, 15:0, 22:0 y 20:1.

La literatura señala a las harinas de semilla de sésamo como fuentes de importancia relativa en la producción de proteínas para consumo humano. Se consideró de interés el estudio de la composición general de la harina de extracción --- (mezcla de todas las variedades estudiadas), el aislamiento de sus proteínas y la evaluación del valor nutritivo de las mismas.

La experimentación conducida lleva a las siguientes conclusiones:

1) La harina integral de extracción (hexano) registró en base seca 55,6 % de proteínas (Nx 6,25), 6,1 % de fibra cruda, un elevado contenido en cenizas (12,3 %) y alto nivel en calcio (2,1 %). Su contenido en proteínas la señala como un "concentrado" proteínico. No obstante su relativamente alto contenido en fibra, el cual a su vez condiciona el elevado valor de materias minerales, limitan su uso directo para ali

mentación humana, especialmente si se tiene en cuenta que todo el calcio se encuentra como oxalato.

Por esa misma razón la harina en estudio (integral) mostró un nivel en contenido proteico que está dentro de los más bajos valores registrados en literatura: 51-80 %. No obstante su contenido proteico resultó similar o superior a los valores citados para las harinas comerciales corrientes, (44-56 %).

Similarmente el contenido en calcio resultó comprendido entre los valores de composición hallados en literatura, registrándose en cambio un valor para fósforo total similar o inferior al señalado para harina totalmente descortificada.

2) En base a una serie de ensayos previos se eligió el valor de 10,5 como pH óptimo de dispersión del material nitrogenado contenido en la harina y el de 5,4 como pH de máxima precipitación.

El aislamiento del coágulo proteico, que comprendió una etapa de dispersión (pH 10,5, dos extracciones con relaciones harina: agua 1:20 y 1:5 y una etapa de precipitación en medio ácido (pH 5,4 y un lavado acuoso al mismo valor de pH) ambas a temperatura ambiente, solubilizó alrededor del 80-82 % del nitrógeno total en la harina, quedando sobrenadante aproximadamente el 12-18 % del nitrógeno total.

3) Las proteínas crudas precipitadas debieron someterse a un proceso de purificación a fin de asegurar características satisfactorias en el producto final: (polvo fino de color blanco, inodoro e insípido) durante el proceso de secado en

vacío a 45°. Este procedimiento comprendió sucesivamente dos lavados acuosos con agua previamente ajustada al valor de pH isoeléctrico y tres lavados con etanol 96 % en relación 20;1 (ml de solvente: g proteína seca) (extracción de lípidos asociados a las proteínas precipitadas). El nitrógeno precipitado correspondió al 63,6 % del nitrógeno total en la harina.

4) De acuerdo a las condiciones experimentales señaladas se procedió a la obtención en escala macro de laboratorio, - de aproximadamente un kilo de proteínas finales con destino a su evaluación biológica y composición en aminoácidos. esenciales.

Se obtuvieron rendimientos que oscilaron entre 32 y 38 % de harina. Aparentemente la mayor pérdida de proteína ocurre en la etapa de purificación, especialmente en los dos últimos lavados etanólicos que llevan en suspensión proteína no sedimentable en las condiciones de centrifugación adoptadas.

Las proteínas purificadas y secas a 45°, analizadas en su composición general respondieron a los siguientes valores: pérdida a 100° (vacío) 5,58 %, Cenizas (500-550°) 0,94 %, Nitrógeno (Macro Kjeldahl) 15,55 %, Nitrógeno (en base libre de humedad y cenizas) 16,63 %, Fósforo total (como P) 0,21 y Calcio (como Ca) 4,6 mg%g.

5) De los extractos etanólicos resultantes de la purificación de las proteínas se aisló el material lipídico (4,38 % - sobre proteína seca a 45°) que presentó los siguientes valores analíticos (sobre lípidos): N° de acidez (mgKOH/g) 149,4; índice de yodo (Wijs) 109,2; índice de saponificación 179,3;

insaponificable 5,1 %, índice de yodo del insaponificable -- (Rosenmund Kuhnenn) 71,1; ácidos totales (por saponifica--- ción) 80,28 %, fósforo total (como P) 0,20 %, esteroides totales (sobre insaponificable) 358 mg%g.

Asimismo se ha determinado la composición acídica por -- CGL sobre los esteres metílicos de los ácidos totales contenidos en dicho material lipídico.

6) Los valores logrados en la determinación de los amino ácidos esenciales y su comparación con los requeridos para la rata en crecimiento, muestran a las proteínas aisladas de la harina de partida como deficientes primariamente en lisina, siendo segundos limitantes la isoleucina y treonina. Desde que no se tienen referencias bibliográficas sobre composición aminoacídica y de valor nutritivo de "aislados protei--cos" de sésamo, la comparación de los mismos sólo ha sido posible con relación a los de harina de extracción.

Los datos obtenidos para aminoácidos esenciales, así como el valor de UPN (33,0) y el de REP(1,21: caseína 2,50) están comprendidos entre los citados para proteínas de harina de sésamo.

El valor de digestibilidad D (90 %) resultó un poco superior al registrado en literatura para proteína de harina de extracción.

Experiencias futuras:

Se considera de interés el estudio de distintas varieda-

des de semilla de sésamo correspondientes a zonas de clima templado y cálido, a fin de observar su influencia en el valor biológico (composición aminoacídica) de las harinas correspondientes, ya que en la literatura se hace referencia a variaciones apreciables para semillas de muy distinta procedencia.

T A B L A S

Tabla 1 - Producción de semilla de algodón en 1968
(según países)

REGION	PAIS	TONELADAS
ASIA	India	411.300
	China	362.200
	Burma	82.800
	Turquía	99.500
	Paquistán	39.600
	Tailandia	22.950
	Irán	12.150
	<u>Total Asia</u>	<u>1.028.250</u>
AMERICA	Méjico	213.300
	Venezuela	75.600
	Colombia (.)	12.150
	Nicaragua	5.850
	U. S. A.	950
	<u>Total América</u>	<u>319.050</u>
AFRICA	Sudán	121.050
	Etiopía	35.550
	Uganda	19.800
	Rep. del Africa Cen.	15.750
	Rep. de Alto Volta	15.750
	<u>Total Africa</u>	<u>260.550</u>
EUROPA	Grecia	5.850
	<u>Total Europa</u>	<u>7.650</u>
	<u>TOTAL MUNDIAL</u>	<u>1.615.500</u>

(.) Según informaciones del Ito Colombiano Agrario (I.C.A.), en Colombia durante 1971 la superficie cultivada fue de 43.000 Ha, cosechándose 27.000 Tn. de semilla.

Tabla 2 - Aceites de semilla de sésamo - Composiciones acídicas determinadas por técnicas distintas de la C. U. L.

Semilla	Ácidos % de Ácidos Totales						Métodos de Análisis	Bibliografía
	14:0	16:0	18:0	20:0	18:1	18:2		
China	--	7,8	4,7	0,4	49,4	37,7	F, P	(20)
Sí. orina	↔ 16,0 ↔						B	(21)
India	--	9,1	4,3	0,8	45,4	40,4	T	(22)
India (.)	0,1	8,2	3,6	1,1	45,3	41,2	C, F, S	(23)
India	0,3	9,4	5,7	1,2	35,0	43,4	C, F, S	(24)
Nicaragua	↔ 14,3 ↔						I, T	(16)
U. S. A.	↔ 12,8 - 13,8 ↔						I, T	(9)

S (destilación fracc. ésteres metílicos); P (índices de polibromuros)
 B (saturados totales según Bertran); C (cristalización fracc. en solventes a bajas temperaturas); S (métodos espectrofotométricos en U.V.)
 I (índices de yodo); F (índices de tiocianógeno)
 (.) Además, 0,5 % de hexadecenoico (16:1)

TABLE 3 - Aceites de semilla de sésamo - Composiciones acídicas determinadas por C.G.L.

	F.O./C.G.S 1968 (25)	Acidos % de Acidos Totales											Dinamarca (28)
		INDIA						U.S.A.		Japón			
		26	27	27	28	(28)	(28)	(28)	(28)	(28)	(28)		
(.)	<0,5	0,4	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	0,2
14:0	<0,5	0,2	0,02	0,02	0,1	0,02	0,1	--	--	--	--	--	0,1
16:0	7,0-12,0	11,7	14,6	15,0	17,0	15,0	17,0	9,2	9,8	9,5	9,8	9,5	11,4
16:1	<0,5	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,2	0,1	vest.	vest.	vest.	vest.	0,2
17:0	--	--	0,1	0,1	--	0,1	--	--	--	--	--	--	--
17:1	--	--	0,04	0,05	--	0,05	--	--	--	--	--	--	--
18:0	3,5-6,0	5,2	6,5	5,5	10,0	5,5	10,0	5,8	2,9	6,1	2,9	6,1	6,2
18:1	35-50	41,4	42,9	40,8	33,8	40,8	33,8	38,2	45,2	38,9	45,2	38,9	41,4
18:2	35-50	39,4	33,3	34,7	37,6	34,7	37,6	45,6	41,5	44,4	41,5	44,4	39,5
18:3	<1,0	0,4	0,4	1,0	<1,0	1,0	<1,0	<0,6	--	<0,6	<0,6	<0,6	<0,6
20:0	<1,0	0,4	1,0	2,1	0,3	2,1	0,3	0,4	0,5	0,5	0,5	0,5	0,4
20:1	<0,5	0,1	0,3	0,4	<1,0	0,4	<1,0	<0,6	--	<0,6	<0,6	<0,6	<0,6
22:0	<1,0	0,6	0,3	0,1	--	0,1	--	--	--	--	--	--	--
24:0	--	--	0,3	0,1	--	0,1	--	--	--	--	--	--	--

(.) Acidos en menos de 0,14

Tabla 4 - Características fisicoquímicas de aceites crudos de extracción de S. indicum (procedencia colombiana)

Var. comercial	L-609			L-507		"Inamar"	"Dulce"	"Porto-viejo 1"
	?	?	Espinal	Nataima	Espinal			
Procedencia							Las Breñas (Arg.)	Ecuador
Peso / Hl (Kg)	—	66,2	62,0	60,9	60,7	59,9	63,0	64,8
Humedad en semilla %	4,53	5,37	4,16	4,85	4,21	4,07	5,53	5,33
Aceite % sem. tal cual	54,98	54,60	54,65	53,20	53,70	52,30	47,22	50,21
Aceite % sem. seca	57,58	57,70	57,02	55,91	56,05	54,51	50,00	53,03
Densidad relativa (25/4°)	—	0,9160	0,9164	0,9166	0,9175	—	0,9150	0,9176
Ind. de refracción (25°)	1,4717	1,4728	1,4717	1,4726	1,4720	1,4712	1,4720	1,4715
Ind. de yodo (Wij's)	109,0	114,8	116,4	112,4	112,6	115,7	109,0	113,5
Ind. de saponificación	187,8	188,4	189,6	187,3	189,3	187,5	187,5	188,0
Nº de acidez (mg KOH/g)	4,46	8,90	5,20	6,80	4,00	1,98	5,40	10,70
Insaponificable %	3,16	3,06	2,44	3,05	3,13	2,95	2,25	2,88
Ind. yodo insaponificable	81,5	91,8	85,3	89,1	86,2	93,2	90,6	108,8
Esteroles totales (mg / g)	587	508	569	562	530	529	486	672

Tabla 5 - Análisis de extracción de semilla de águano colorado
Composición acídica

Variedad comercial y procedencia	Ácidos de ácidos totales (.)					
	16:0	18:0	20:0	18:1	16:2	
L-609 (?)	10,3	5,7	vest	41,1	42,9	
L-609 (?)	9,7	5,3	0,2	37,0	47,6	
L-609 (Espinal)	10,2	4,8	0,2	35,0	49,8	
L-507 (Matatima)	10,0	5,9	0,3	36,2	47,6	
L-507 (Espinal)	9,5	4,8	0,3	41,6	43,8	
Inamar (Montería)	10,1	3,2	vest	37,2	49,5	
Dulce (Las Breñas-Chaco-ARG.)	9,7	5,2	0,3	43,9	40,9	
Portoviejo 1 (Ecuador)	10,6	5,6	0,3	36,3	47,2	

(.) En todos los casos rastros de 16:1, 17:0, 17:1 y 18:3

TABLE 6 - Composición en aminoácidos esenciales de las proteínas de harina de semilla de sésamo (G/16 & N)

Aminoácidos	Harina de extracto. (hexano) obtenida en lab.	Valores reportados en literatura (harinas de extracción)			
		(4) (70)	(3) (64)	(1) (71)	(2) (72)
Arginina	9,3	12 - 13	—	—	—
Fenilalanina	3,2	4,2-4,5	2,3-3,3	—	—
Histidina	2,1	2,2-2,5	—	—	—
Isoleucina	3,2	3,3-3,6	2,6-3,5	—	6,3
Leucina	6,0	6,5-7,0	4,4-5,6	—	5,9
Lisina	2,2	2,5-3,0	0,8-1,4	1,7	3,2
Metionina	3,2	2,5-4,0	1,6-2,4	1,5	3,4
Tirosina	2,7	—	—	—	—
Treonina	2,9	3,5-3,8	2,2-3,5	—	—
Triptofano	1,6	2,0-2,4	—	—	1,7
Valina	4,2	4,2-4,4	1,7-2,5	—	6,7

a) Technicon Amino Acid Analyzer, valores máximos y mínimos.

b) Método Microbiológico, valores máximos y mínimos.

TABLA 7 - Aceites de semilla de cáscara
Extracción y rendimiento en aceites crudos

Variiedad comercial	Humedad en semilla, %	En extracción (g)	Aceite crudo out. (g)	Rend. % (semilla tal cual)	Rend. % (semilla seca)
L-609	4,53	21,30	11,71	54,98	57,58
L-609	5,37	987,3	539,5	54,60	57,70
L-609 (Aspinal)	4,16	64,90	35,47	54,65	57,62
Ica L-507 (Nataima)	4,85	490,4	260,9	53,20	55,91
L-507 (Aspinal)	4,21	65,22	35,02	53,70	56,05
Inamar (Monteria)	4,07	56,30	29,45	52,30	54,51
Dulce (Cusco, Arg.)	5,53	998,0	424,1	47,22	50,00

TABLA 8 - Valores de índice de yodo determinados y calculados

Variiedad	Determinado	Calculado
L-609	109,0	108,8
L-609	114,8	113,7
L-609 (Espinal)	116,4	115,2
L-507 (Nataima)	112,4	112,3
L-507 (Espinal)	112,6	111,2
Inamar (Montoria)	115,7	117,6
Dulco (Chaco, ARG.)	109,0	107,8

TABLA 9 - Destilación fraccionada de los ésteres metílicos de los ácidos totales del aceite de sésamo, var. "Dulco"

Fracción	Peso (g)	Temperaturas (°C)		
		Bajo	Medio columna	Cabeza
1	0,20	205 - 205	187 - 188	90 - 110
2	0,58	205 - 206	188 - 189	110 - 114
3	1,09	206 - 214	189 - 195	114 - 120
4	1,51	214 - 217	195 - 196	120 - 140
5	4,76	217 - 225	196 - 207	140 - 158
6	5,84	225 - 226	207 - 209	158 - 158
7	4,84	226 - 228	209 - 220	158 - 158
8	1,03	228 - 230	220 - 228	158 - ↓
Residuo	3,69(.)			

(.) Formado por 0,12g de insaponificable y 3,57 g de ésteres metílicos de ácidos totales del residuo.

TABLA 10 - Destilación fraccionada ésteres metílicos de ácidos totales del aceite var. "Dulce"-Composiciones acídicas (C. G. L.) de las fracciones y residuo de destilación

Fracción Nº	Paso (g)	% de ésteres de ác. totales	Ácidos % de Ácidos en Fracción																
			12:0	14:0	15:0	16:0	17:0	18:0	20:0	22:0	16:1	17:1	18:1	20:1	18:2				
1	0,20	0,85	0,1	1,2	vest.	97,5	vest.	-	-	-	-	-	-	1,2	vest.	-	-	-	
2	0,58	2,48	vest.	0,1	-	98,5	vest.	vest.	-	-	-	-	-	0,8	vest.	0,2	-	-	0,4
3	1,09	4,65	-	-	-	85,4	0,3	0,6	-	-	-	-	-	0,7	vest.	5,8	-	-	7,2
4	1,51	6,45	-	-	-	18,5	0,3	1,2	-	-	-	-	-	vest.	0,2	33,1	-	-	46,7
5	4,76	20,33	-	-	-	0,8	-	3,0	-	-	-	-	-	-	-	44,4	-	-	51,8
6	5,84	24,93	-	-	-	0,1	-	5,3	-	-	-	-	-	-	-	48,9	-	-	45,7
7	4,84	20,67	-	-	-	-	-	7,2	-	-	-	-	-	-	-	46,2	-	-	46,6
8	1,03	4,40	-	-	-	-	-	8,5	-	-	-	-	-	-	-	51,4	-	-	40,1
Res.(.)	3,57	15,24	-	-	-	0,1	-	11,8	4,3	1,2	-	-	-	-	-	49,2	1,4	-	32,0

(.) Libre de insaponificable.

TABLA 11 a - Composición de las dietas utilizadas en la determinación de la U P N

	Dieta Expe- rimental	Dieta libre de proteína
	%	
Proteína aislada de sésamo	10,93	-
Aceite de maíz	9,5	9,5
Mezcla de sales	5,0	5,0
Vitaminas hidrosolubles	0,25	0,25
Vitaminas liposolubles	0,50	0,50
Colina	0,60	0,60
Dextrina C.S.F.	100,00	100,00

TABLA 11 b - Composición de las dietas utilizadas en la determinación de la R E P

	Dieta Expe- rimental	Dieta Control Caseína
	%	
Proteína aislada de sésamo	11,64	-
Caseína	-	11,37
Aceite de maíz	9,5	9,5
Mezcla de sales	5,0	5,0
Vitaminas hidrosolubles	0,25	0,25
Vitaminas liposolubles	0,50	0,50
Colina	0,60	0,60
Dextrina C.S.F.	100,00	100,00

F I G U R A S

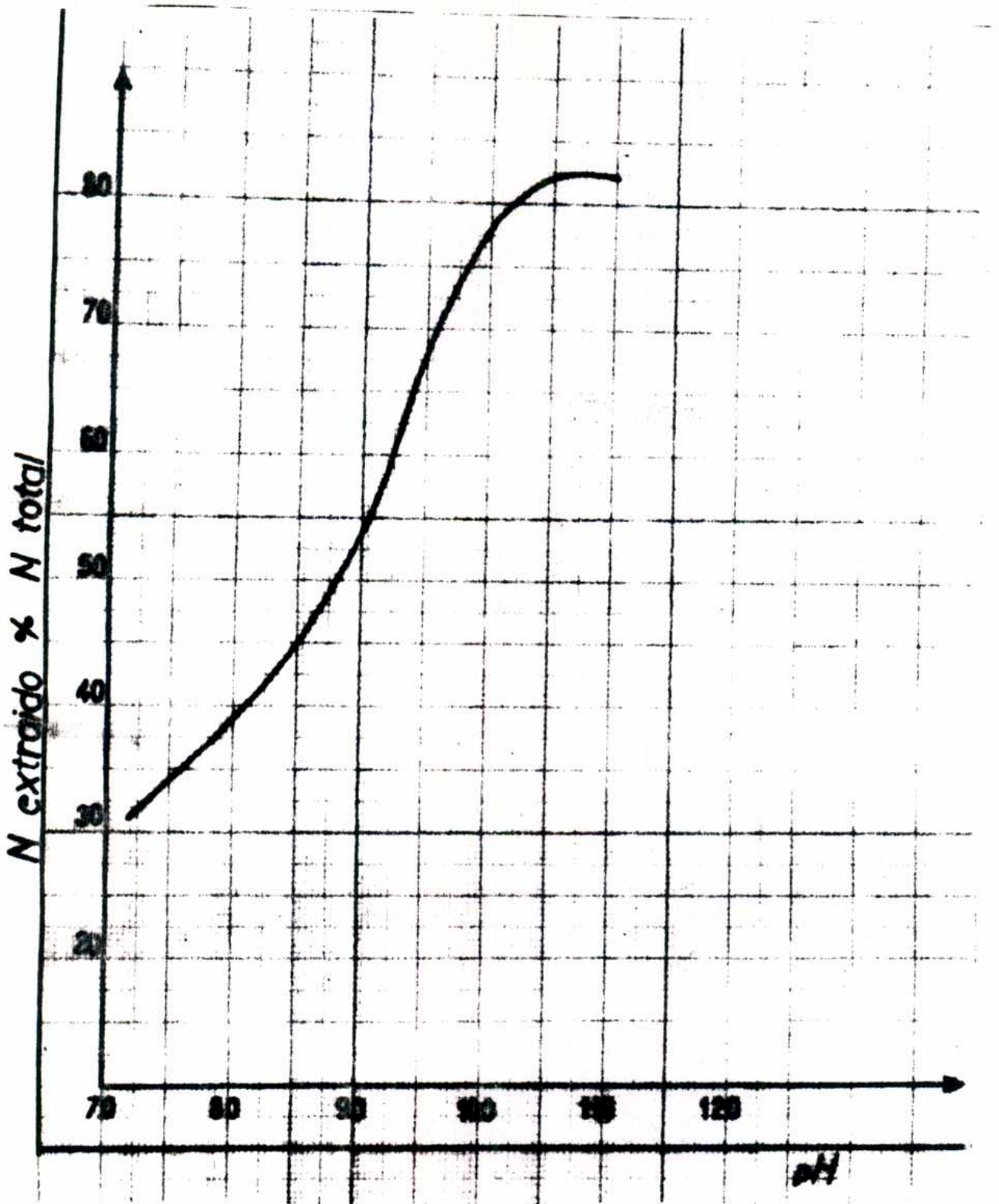


FIG. 4- Proteínas de harina integral de semilla de sésamo. N extraído % N total en harina en función del pH de extracción.

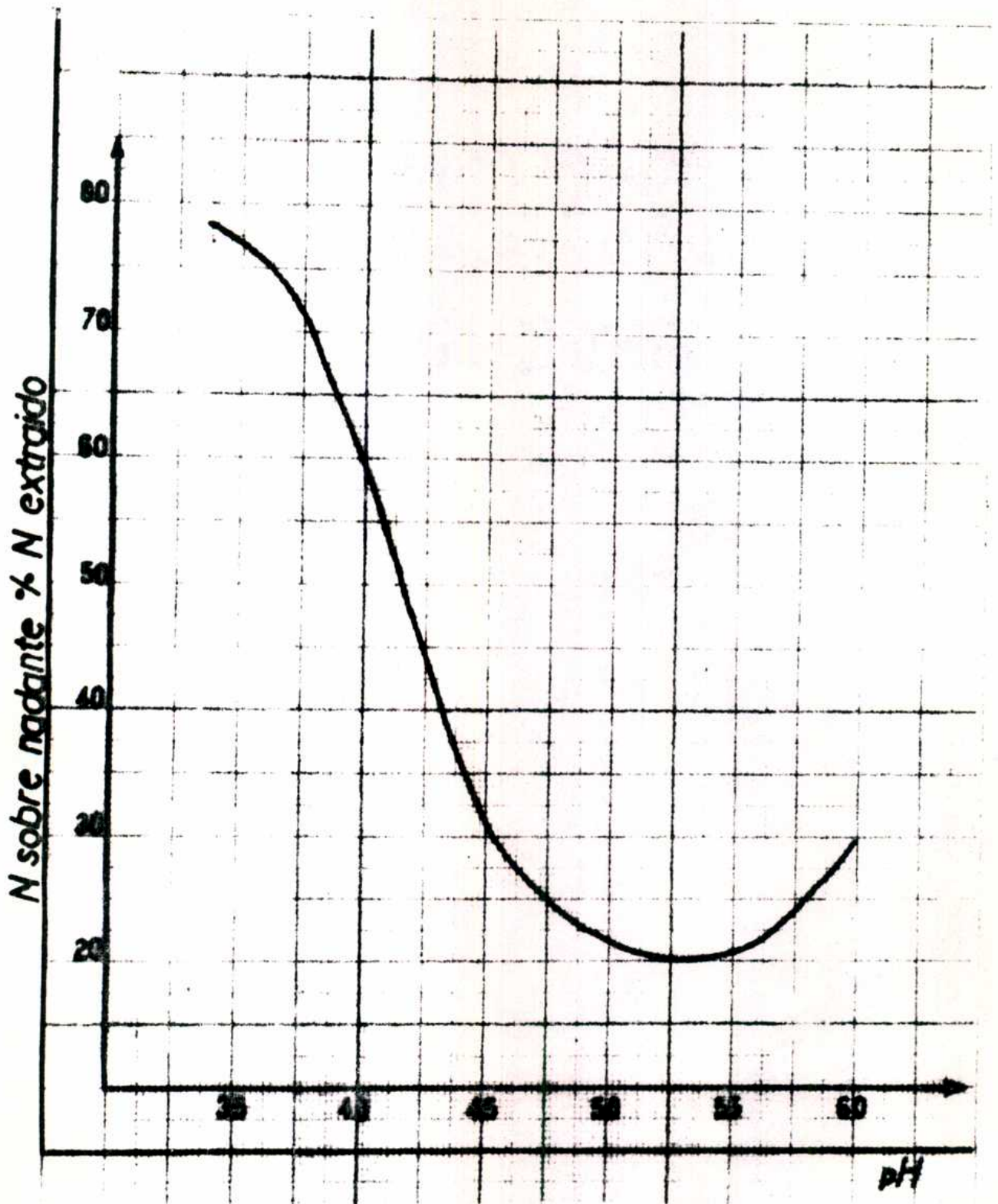


FIG. 5- Proteínas de harina integral de semilla de sésamo
N sobrenadante % N extraído en función del pH de precipitación.

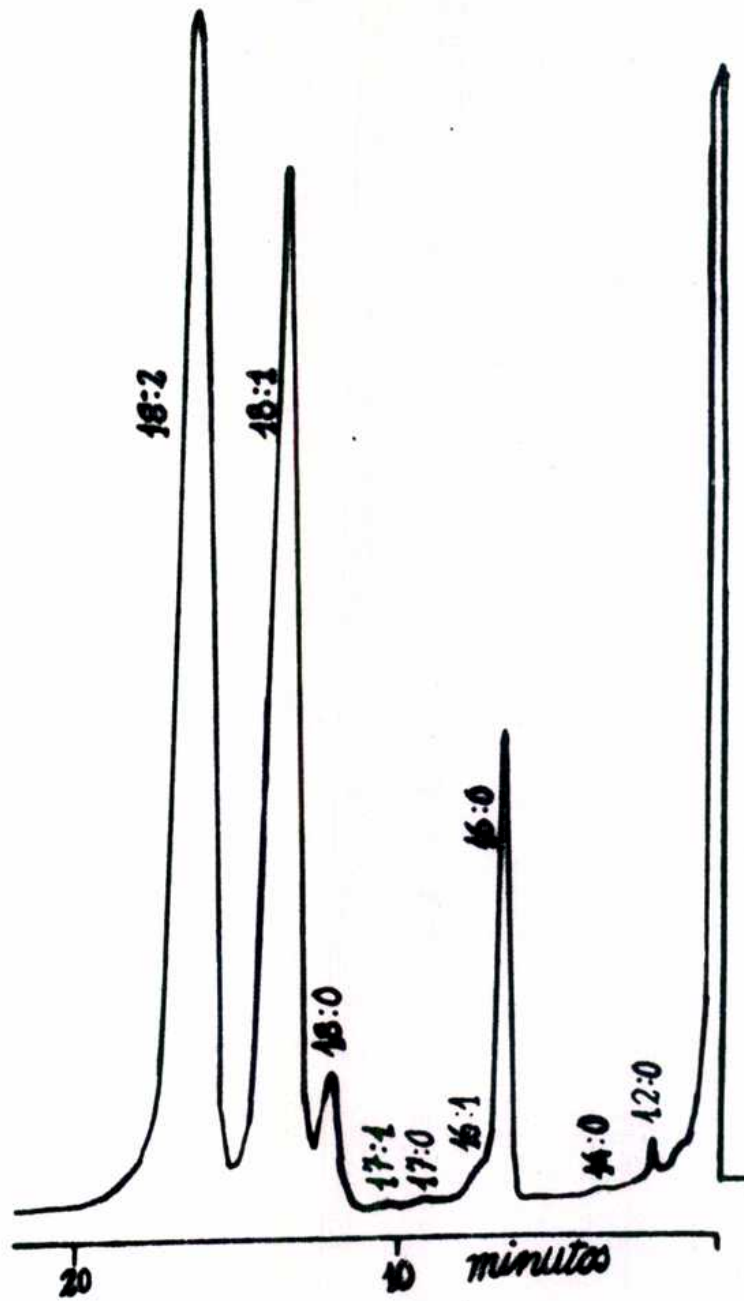


FIG. 6- Proteínas de harina integral de semilla de sésamo
Cromatografía gas-líquido de los ésteres metílicos de los ácidos totales de los lípidos asociados a las proteínas precipitadas.

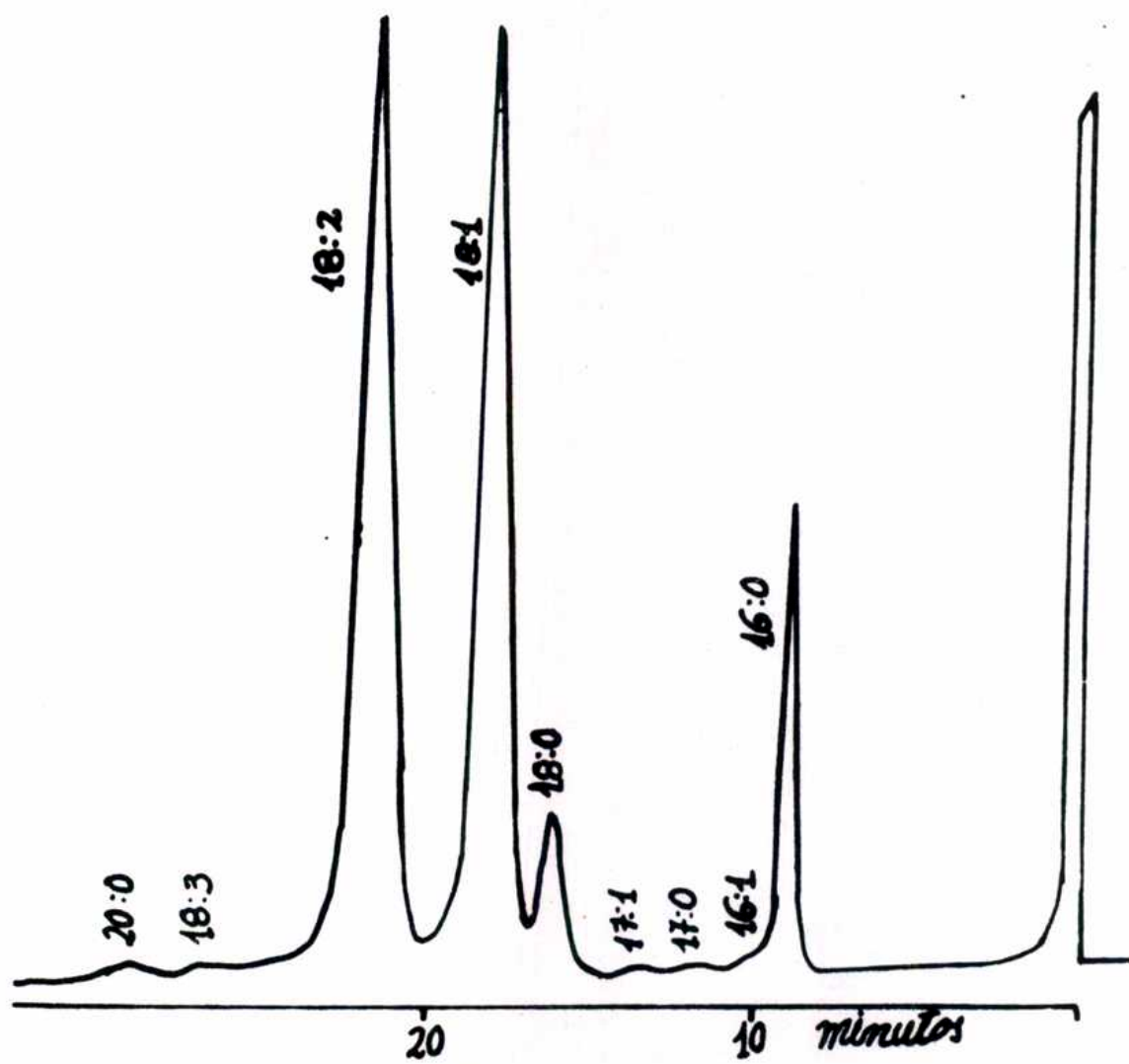


FIG. 7- Cromatografía gas-líquido de los ésteres metílicos de ácidos totales del aceite, Var. L-507 (Espinal).

COMPOSICION EXHAUSTIVA del ACEITE de SEMILLA de SESAMO
Var. "Dulce" (Chaco, Argentina)- Cromatogramas gas-líquido
de fracciones y residuos de destilación.

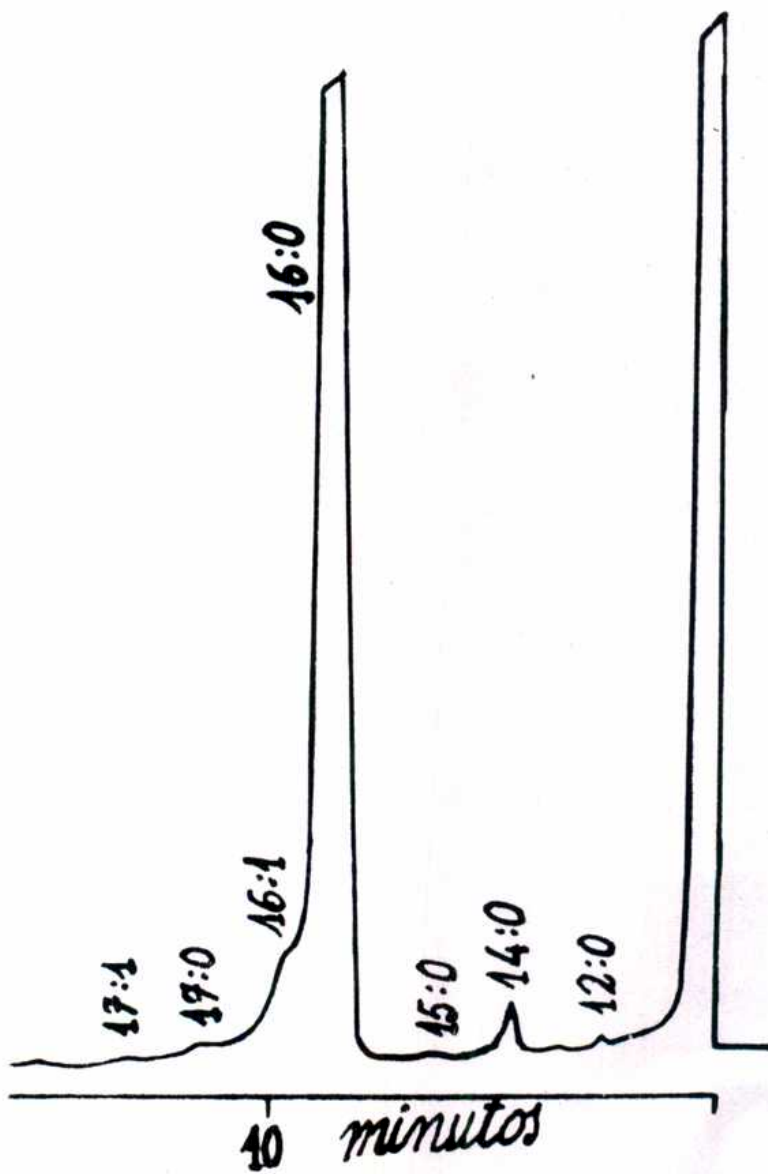


FIG. 8- Fracción 1

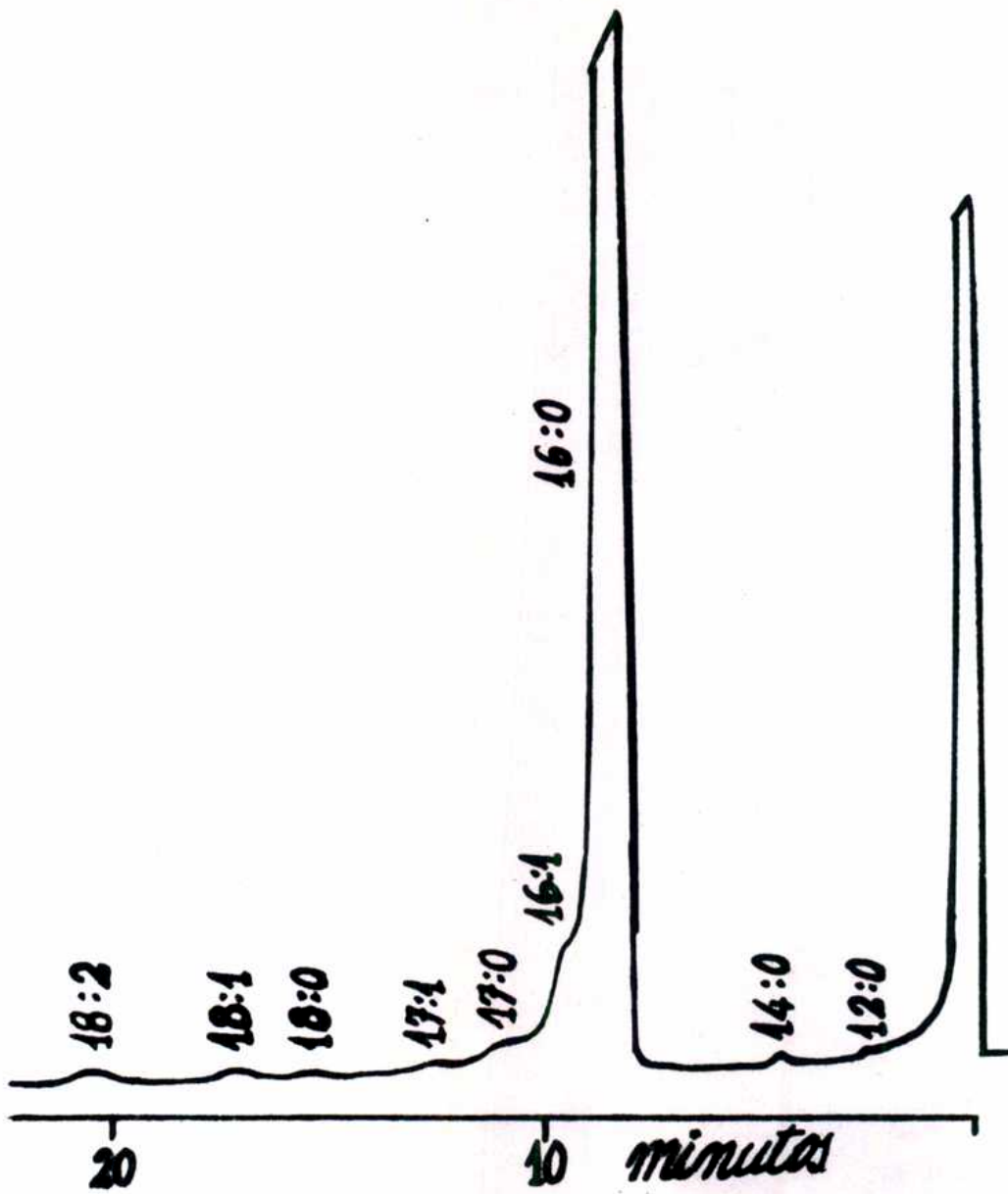


FIG. 9- Fracción 2

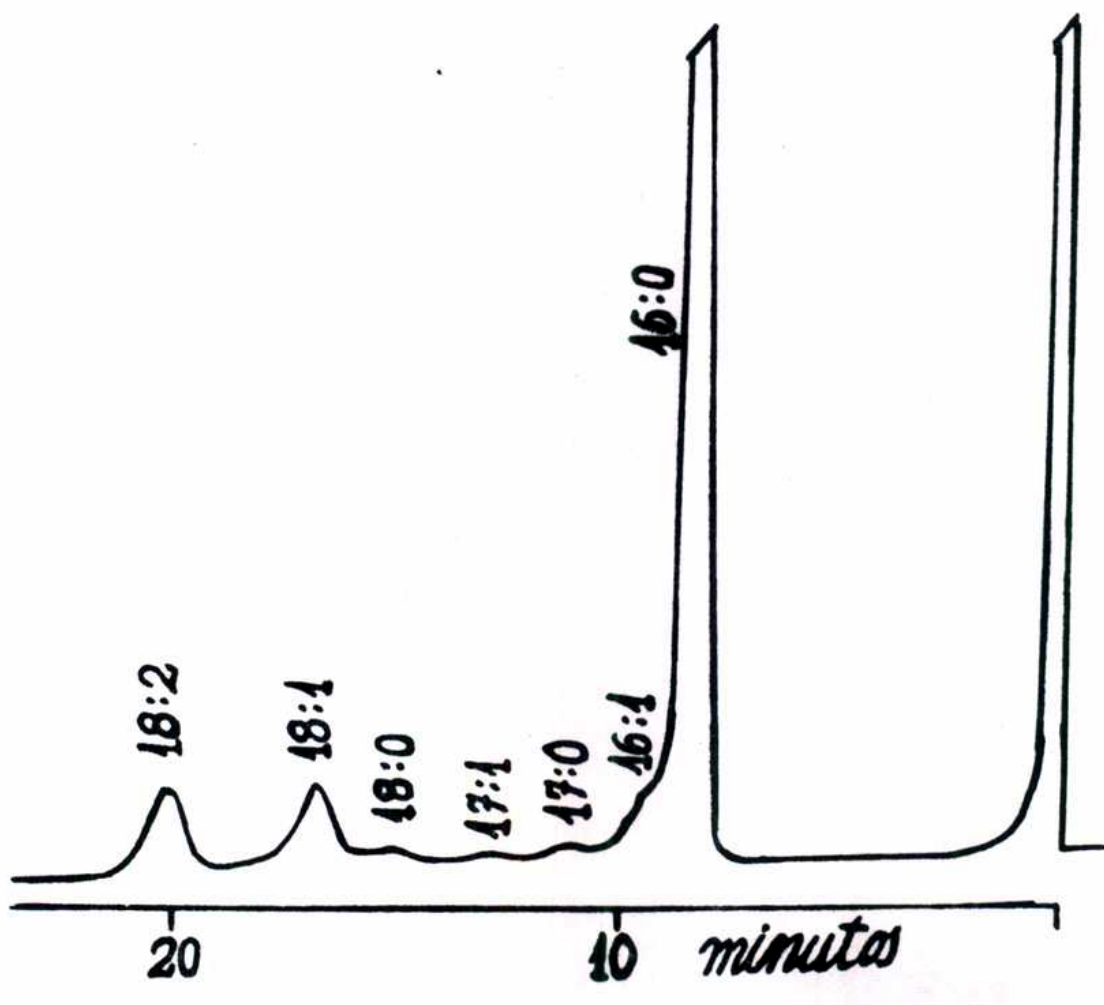


FIG. 10- Fracción 3

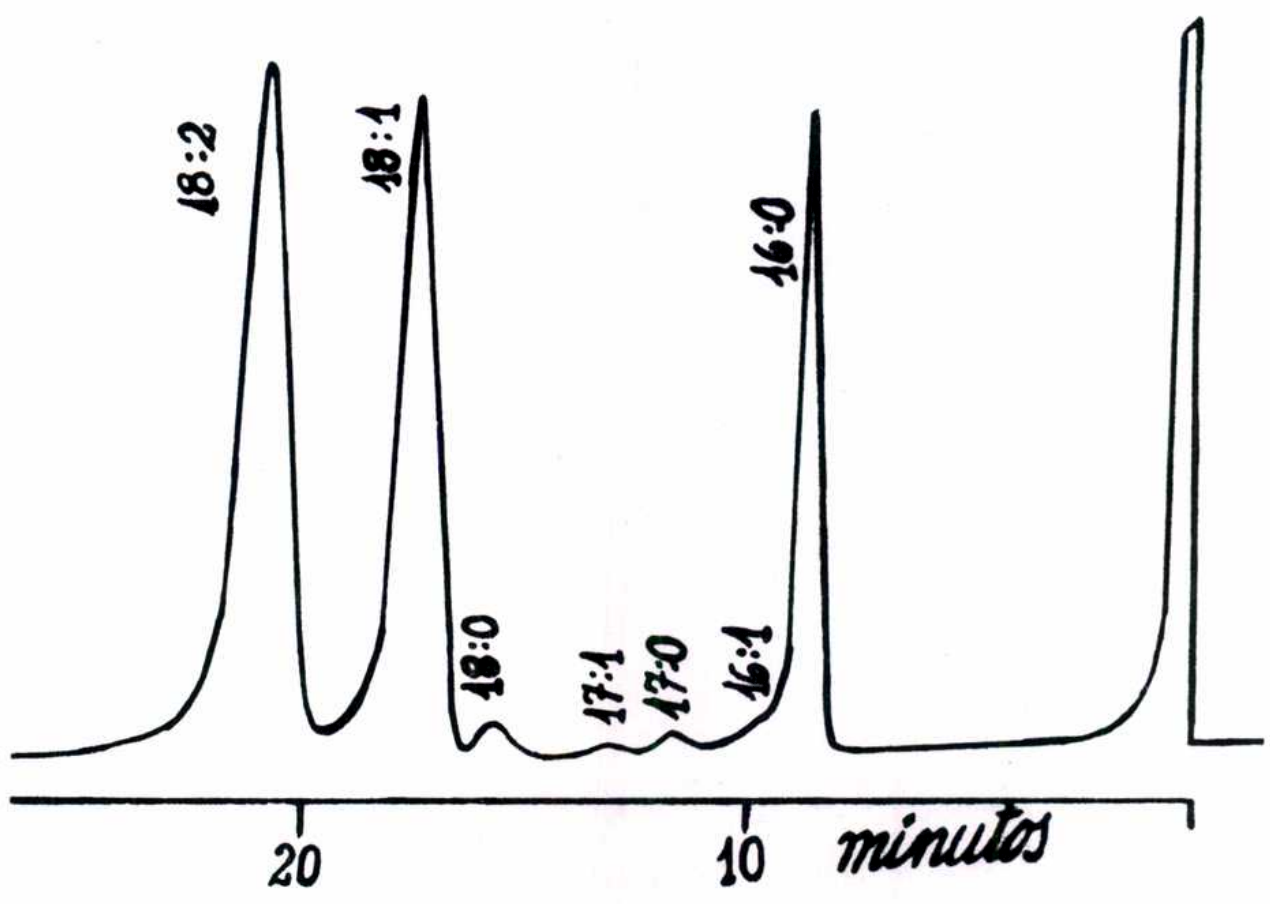


FIG. 11- Fracción 4

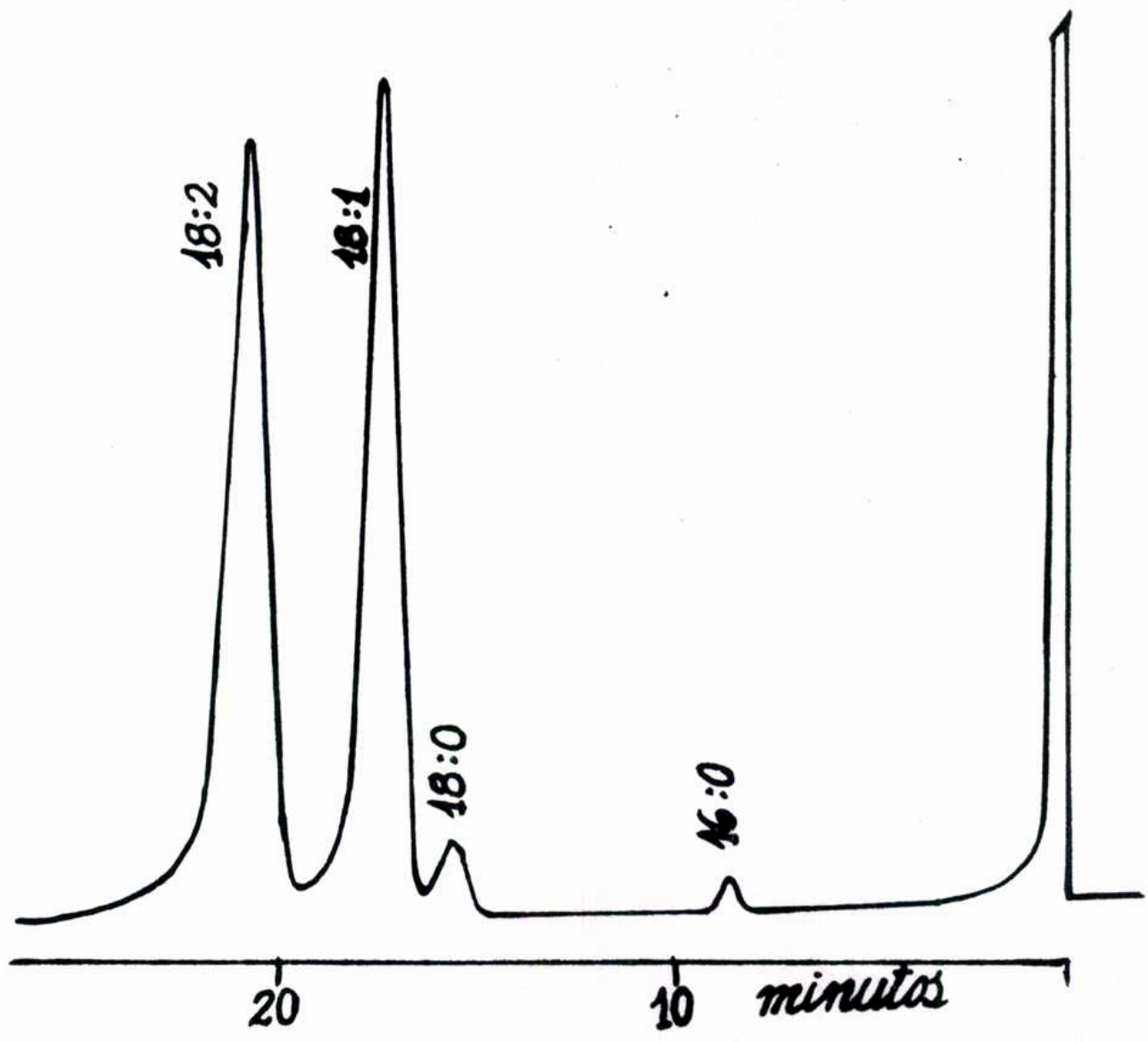


FIG. 12- Fracción 5

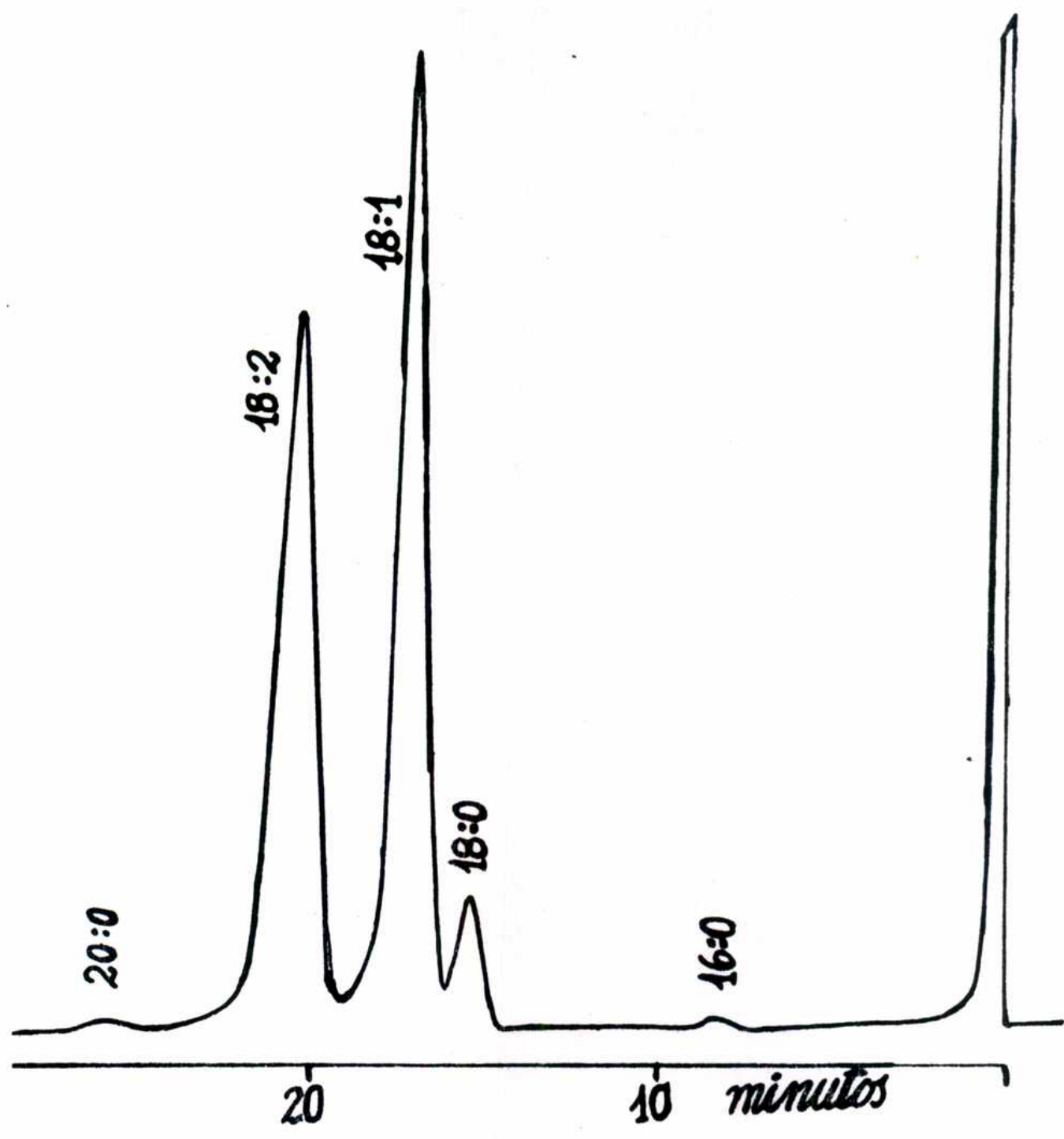


FIG. 13- Fracción 6

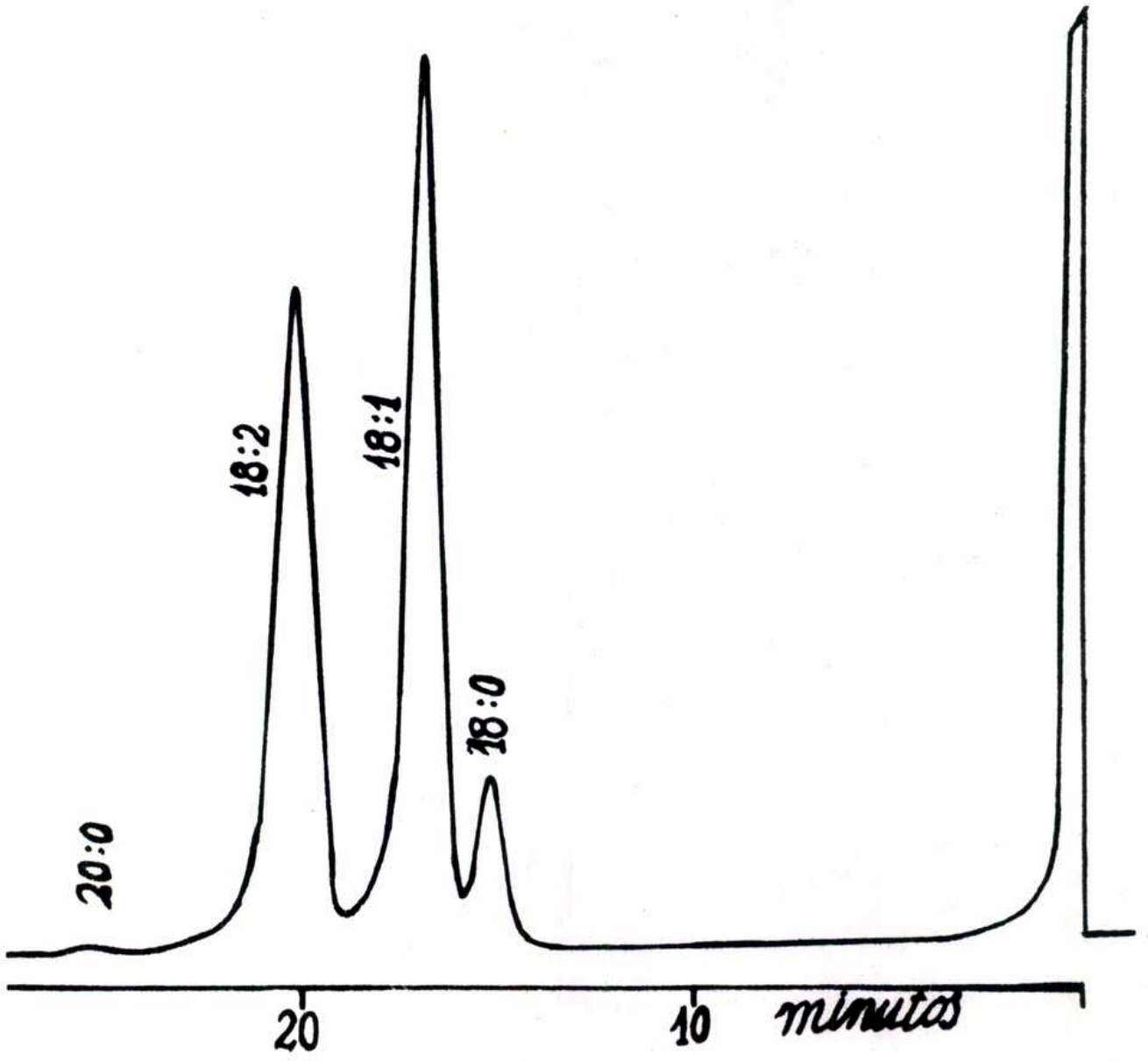


FIG. 14- Fracción 7

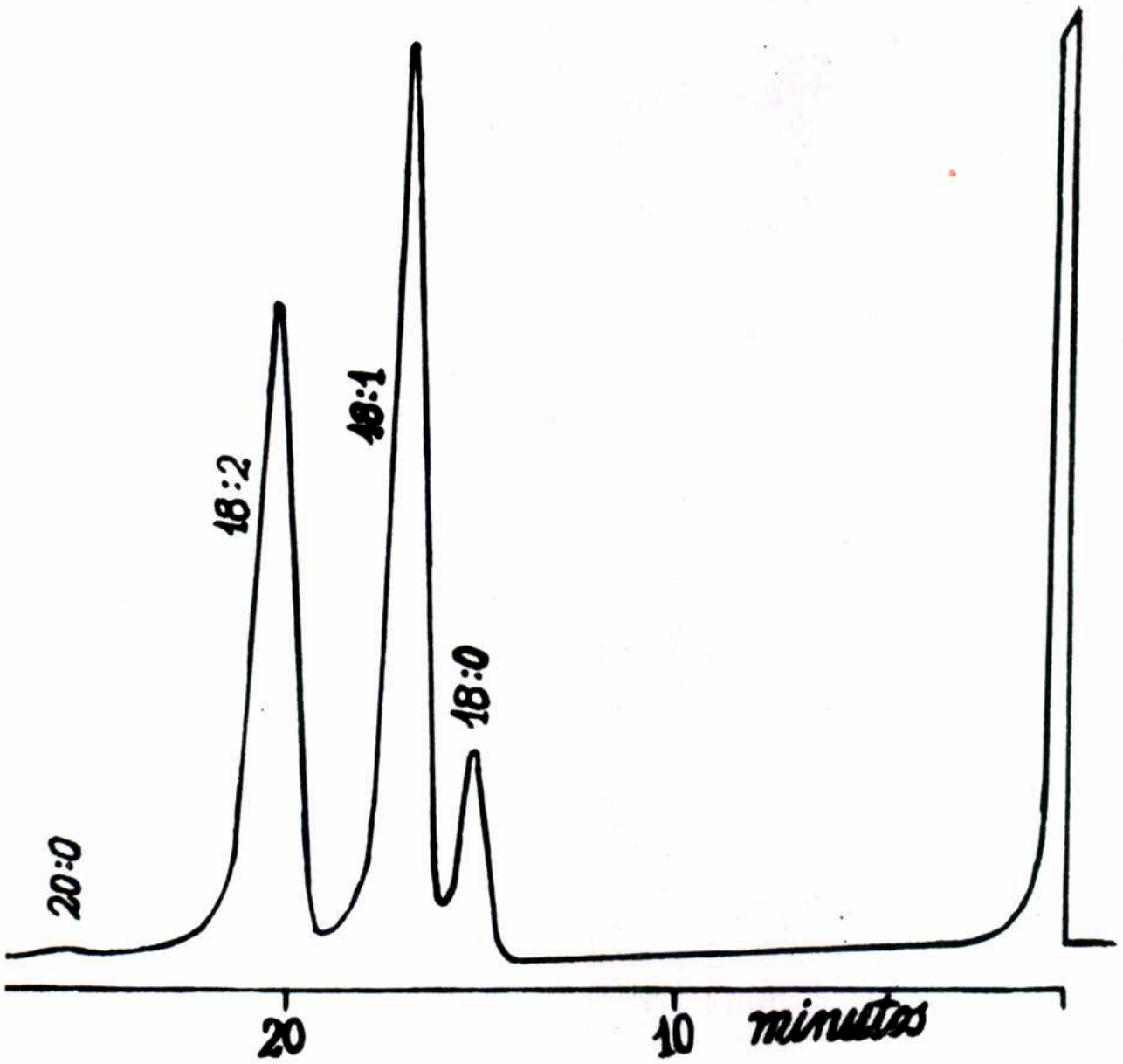
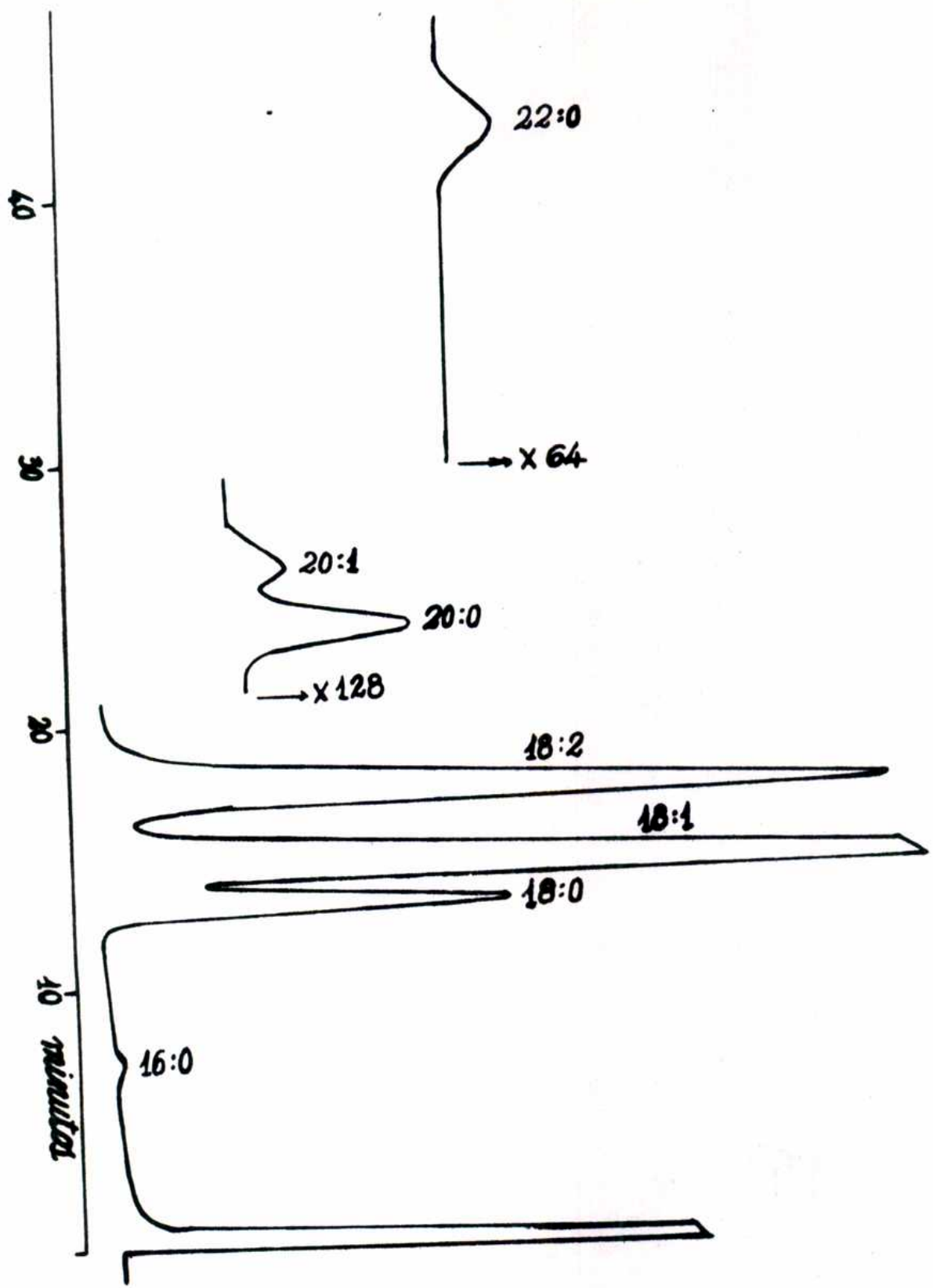


FIG. 15- Fracción 8

FIG. 15- Residuo de destilación



L I T E R A T U R A C I T A D A

Literatura citada

- 1- A.L. Winton y K.B. Winton - "The Structure and Composition of Foods" - John Wiley & Sons, Inc. New York, Vol 1 pág 598 (1932)
- 2- A.M. Altschul - "Processed Plant Protein Foodstuffs" - Academic Press. Inc., Publ., New York, pág 535 (1958)
- 3- J. Lewkowitsch - "Chemical Technology and Analysis of Oils, Fats and Waxes", Mac Millan and Co., Ltd., London, Vol II, pág 215 (1922)
- 4- P. Budowski y K. S. Markley - Chem. Rev., 48, 125 (1951)
- 5- E. W. Eckey - "Vegetable Fats and Oils" - Reinhold Publ. Corp., New York, pág 746 (1954)
- 6- D. G. Langham - J. Heredity, 37, 149 (1946). Mencionado por A. M. Altschul (2)
- 7- D. M. Yermanos - A.O.C.S. Meeting, Houston, Texas, May - 1971
- 8- R. W. Howell - J. Amer. Oil Chem. Soc., 48, 492 (1971)
- 9- F. G. T. Menezes, P. Budowski y F. G. Dollear - J. Amer. Oil Chem. Soc., 27, 184 (1950)
- 10- M. L. Kinman y S. M. Stark - J. Amer. Oil Chem. Soc., 31 104 (1954)
- 11- F. L. Carter, V. O. Cirino y L. E. Allen - J. Amer. Oil Chem. Soc., 38, 148 (1961)
- 12- F.A.O. Production Yearbook (UN), 23, 215 (1969)
- 13- C. K. Lyon - J. Amer. Oil Chem. Soc., 49, 245 (1972)
- 14- M. J. de Fontenelle y M. F. Malepeyre - "Nouveau Manuel

- Complet du Fabricant et de L' Epurateur D' Huiles Vegéta
les & Animales" - Marodet, Paris, pág 96 (1866)
- 15- G. Halphen - "Huiles et Graisses Végétales Comestibles".
Librairie Polytechnique Ch. Béranger, Paris, pág 399 -
(1912)
- 16- V. Andraos, C. E. Swift y F. G. Dollear, J. Amer. Oil -
Chem. Soc. 27, 31 (1950)
- 17- American Oil Chemists' Society - Official and Tentative
methods Vol II, Table-I- 1-46 (1962)
- 18- P. Budowski - J. Amer. Oil Chem. Soc., 28, 54 (1951)
- 19- T. P. Hilditch y P. N. Williams - "The Chemical Constitu
tion of Natural Fats", Chapman & Hall, London, pág 234,
688, (1964)
- 20- G. S. Jamieson y W. F. Baughman, J. Amer. Chem. Soc., 46,
775 (1924)
- 21- K. I. Rudakov y M. A. Belopolski, Maslob. Shir. Delv, Nº
2-3, 60 (1931). Tomado de (19)
- 22- T. P. Hilditch, M. B. Ichaporía y H. Jaspersón, J. Soc.
Chem. Ind., 57, 363 (1938)
- 23- T. P. Hilditch y J. P. Riley - J. Soc. Chem. Ind., 64,
204 (1945)
- 24- M. M. Chakrabarty y T. P. Hilditch, J. Sci. Food Agric.,
2, 255 (1951)
- 25- R. T. O' Connor y S. F. Herb, J. Amer. Oil Chem. Soc.,
47, 186 A (1970)
- 26- B. Sreenivasan, J. Amer. Oil Chem. Soc., 45, 259 (1968)
- 27- J. Dutta y A. Ghosh, J. Appl. Chem. (India), 31, 218 -

- (1968)
- 28- H. P. Kaufmann y G. Mankel, Fette Scifen Anstrichm., 65, 179 (1963)
- 29- P. Budowski, J. Amer. Oil Chem. Soc., 41, 280 (1964)
- 30- J. F. Tocher, Pharm. J. Trans., 639 (1890/91); 700 (1892/93)
- 31- V. Villavecchia y G. Fabris, Z. Angew. Chem., 6, 505 - (1893); Ann. Lab. Chim. Centr. Gabelte (Roma), 3, 13 - (1897)
- 32- W. Adriani, Z. Untersuch. Lebensm., 56, 187 (1928)
- 33- J. Böeseken y W. D. Cohen, Biochem. Z., 201, 454 (1928)
- 34- S. H. Bertram, J. P. K. Vander Steur y H. I. Waterman, Biochem. Z. 197, 1 (1928)
- 35- F. Bruchhausen y H. Gerhard, Ber., 72, 830 (1939)
- 36- M. Beroza y M. S. Schechter, J. Am. Chem. Soc., 78, 1242 (1956)
- 37- K. Freudenberg y E. Fischer, Naturwissenschaften, 43, 16 (1956)
- 38- F. V. Bruchhausen y K. Lingner, Arch. Pharm., 290, 1 - (1957)
- 39- K. Freudenberg y G. S. Sidhu, Tetrahedron Letters, Nº20 3 (1960)
- 40- F. Canzoneri y F. Perciabosco, Gazz. Chim. Ital., 33 II, 253 (1903)
- 41- G. Malagnini y G. Armani, Rend. Soc. Chim. Ital., 5, - 133 (1907); Chemiker Ztg., 31, 884 (1907)
- 42- H. Kreis, Chem. Ztg., 27, 1030 (1903)

- 43- J. Böeseken, W. D. Chen y C. J. Kip, Rec. Trav. Chim., 55, 815 (1946)
- 44- B. Carnmalm, H. Erdtman y Z. Pelchowicz, Acta Chem. Scand 9, 1111 (1955)
- 45- M. Beroza, J. Am. Chem. Soc., 77, 3332 (1955)
- 46- E. Haslam y R. Haworth, J. Chem. Soc., 827 (1955)
- 47- W. A. Jones, M. Beroza y E. D. Becker, J. Org. Chem., 27 3232 (1962)
- 48- P. Budowski, R. T. O' Connor y E. T. Field, J. Amer. Oil Chem. Soc., 27, 307 (1950)
- 49- H. A. Boekenoogen "Analysis and Characterization of Oils Fats and Fat Products", Interscience Publ., London, Vol 2, pág 500 (1968)
- 50- P. Budowski, R. T. O' Connor y E. T. Field, J. Amer. Oil Chem. Soc., 28, 51 (1951)
- 51- M. Beroza y M. L. Kinman, J. Amer. Oil Chem. Soc., 32, - 348 (1955)
- 52- H. S. Olcott y H. A. Mattil, Chem. Rev., 29, 257 (1941)
- 53- P. Budowski, F. G. T. Menezes y F. G. Dollear, J. Amer. Oil Chem. Soc., 27, 377 (1950)
- 54- R. N. Moore y W. G. Bickford, J. Amer. Oil Chem. Soc., - 29, 1 (1952)
- 55- K. Fukuzuni e N. Ikeda, J. Amer. Oil Chem. Soc., 46, 64 (1969)
- 56- K. Fukuzumi e N. Ikeda, J. Amer. Oil Chem. Soc., 47, 369 (1970)
- 57- C. Eagleson, U. S. Patent Nº 2.202.145 (Mayo 28, 1940)

- 58- J. Fitelson, J. Assoc. Offic. Agr. Chemists, 26, 499 -
(1943)
- 59- W. Lange, J. Amer. Oil Chem. Soc., 27, 414 (1950)
- 60- E. Fedeli, A. Lanzani, P. Capella y G. Jacini, J. Amer. Oil Chem. Soc., 43, 254 (1966)
- 61- M. W. Dicks "Vitamin E Content of Foods and Feeds for Human and Animal Consumption"; University of Wyoming, Laramie, U.S.A. pág 53 (1965)
- 62- M. K. G. Rao, S. V. Rao y K. T. Achaya, J. Sci. Food Agr. 16, 121 (1965)
- 63- M. C. Shamanthaka Sastry, N. Subramanian y R. Rajagopalan J. Amer. Oil Chem. Soc., 46, 592 A (1969)
- 64- A. M. Villegas, A. Gonzalez y R. Calderon, Cereal Chem., 45, 379 (1968)
- 65- M. C. Kik, Agr. Food Chem., 8, 327 (1960)
- 66- M. H. Bertoni y P. Cattaneo, Anales Asoc. Quim. Argentina, 60, 373 (1972)
- 67- V. C. Mehlenbacher, "The Analysis of Fats and Oils", The Garrard Press Publ., Champaign III., pág 592 (1960)
- 68- H. H. Mitchell y R. J. Block, J. Biol. Chem., 163, 599 (1946)
- 69- J. M. Mc Laughlan y W. L. Ilman, J. Nutr., 93, 21 (1967)
- 70- R. J. Evans y S. L. Bandemer, Cereal Chem., 44, 417 - (1967)
- 71- Z. I. Zabry, A. B. Morrison y J. A. Campbell, J. Amer. Oil Chem. Soc., 47, 377 (1964)
- 72- S. Szmelcman y K. Guggenheim, J. Sci. Food Agr., 18, 347

- (1967)
- 73- P. B. Rama Rao, H. W. Norton y B. C. Johnson, J. Nutr., 82, 88 (1964)
- 74- P. K. Tasker, Kantha Joseph, N. Narayana Rao, M. Swaminathan, A. N. Sankaran, A. Sreenivassan y V. Subramanyan Ann. Biochem. Exptl. Med. (Calcuta), 22, 113 (1962) -C.A 57 (3) 11633 (1962)
- 75- H. E. Longenecker, J. Soc. Chem., Ind., 56, 199 T (1939)
- 76- W. L. Mc Cabe y E. W. Thiele, Ind. Eng. Chem., 17, 605 (1925)
- 77- G. R. Bartlett, J. Biol. Chem., 234, 466 (1959)
- 78- E. A. Garcia Arca, Tesis, "Sobre el contenido en ácido fítico de trigos argentinos de distintas variedades", F. C. E. y N., U.B.A. (1958)
- 79- R. J. Casares y L. Moreno, Anal. Bromat., (Madrid), 3, - 245 (1951)
- 80- F. J. Welcher, "The Analytical Uses of Etilenediamine tetraacetic acid", 213, D. Van. Nostrand Co. INC. New York (1958)
- 81- R. U. Makover, Cereal Chem., 47, 288 (1970)
- 82- E. L. Wheeler y R. E. Ferrel, Cereal Chem., 48, 312 --- (1971)
- 83- B. Steele, H. Sauberlich, M. Reynolds y C. Bauman, J. Biol. Chem., 177, 533 (1949)
- 84- N. S. de Cotteli y R. Basualdo, Rev. Asoc. Argentina Microbiol., 1, 243 (1969)
- 85- J.E. Ford, Brit. J. Nutr. 14, 485 (1960)

- 86- J. E. Ford, Brit. J. Nutr., 18, 499 (1964)
- 87- M. J. Carpenter, Biochem. J., 77, 604 (1960)
- 88- S. Raghvendar Rao, F. L. Carter y U. I. Frampton, Anal. Chem., 35, 1927 (1963)
- 89- D. S. Miller y A. E. Bender, Brit. J. Nutr., 9, 382 --- (1955)
- 90- M. E. Sambucetti y J. C. Sanahuja, Arch. Latinoamer. Nutr 20, 119 (1970)
- 91- Publicación 1.100 National Academy of Sciences National Research Concil, pág 19, Washington 1963


DR. PEDRO CATTANEO
PROFESOR TIT. PLENERIO
p. Dra. M. H. Gestoni

Lucía Villegas

I N D I C E

INTRODUCCION:	2
PARTE I: Discusión de la Parte Experimental	26
PARTE II: Parte Experimental	44
PARTE III: Conclusiones	66
TABLAS:	73
FIGURAS:	84
LITERATURA CITADA:	98