Biblioteca Digital
F C E N - U B A

BIBLIOTECA CENTRAL LUIS F LELOIR
BIBLIOTECA CENTRAL LELOIR
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES UBA

Tesis de Posgrado

Harinas de extracción (Hexano) de semilla de 49 variedades de soja (Marcos Juarez, Córdoba) : Composición química y factores antinutricionales, cascarilla industrial de poroto de soja: composición química

Bouzas, Jorge O.

1981

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:
Bouzas, Jorge O.. (1981). Harinas de extracción (Hexano) de semilla de 49 variedades de soja (Marcos Juarez, Córdoba) : Composición química y factores antinutricionales, cascarilla industrial de poroto de soja: composición química. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.
http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_1648_Bouzas.pdf

Cita tipo Chicago:
Bouzas, Jorge O.. "Harinas de extracción (Hexano) de semilla de 49 variedades de soja (Marcos Juarez, Córdoba) : Composición química y factores antinutricionales, cascarilla industrial de poroto de soja: composición química". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1981.
http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_1648_Bouzas.pdf

EXACTAS UBA
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

UBA
Universidad de Buenos Aires

Dirección: Biblioteca Central Dr. Luis F. Leloir, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires. Intendente Güiraldes 2160 - C1428EGA - Tel. (++54 +11) 4789-9293

Contacto: digital@bl.fcen.uba.ar

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

HARINAS DE EXTRACCION (HEXANO) DE SEMILLA DE 49 VARIEDADES DE SOJA (MARCOS JUAREZ, CORDOBA)- COMPOSICION QUIMICA Y FACTORES ANTINUTRICIONALES - CASCARILLA INDUSTRIAL DE POROTO DE SOJA : COMPOSICION QUIMICA.

1648

JORGE O. BOUZAS

Tesis presentada para optar el título de Doctor en Ciencias Químicas

1981

Agradezco particularmente al Dr. Pedro Cattáneo, Director de Tesis y Consejero de Estudios, quién con sus enseñanzas, constante estímulo y dedicación posibilitó la realización de este Tesis.

Agradezco

a la Dra. María H. Bertoni por la desinteresada y valiosa colaboración prestadas en el asesoramiento y experimentación de diversas etapas de este trabajo.

a la Dra. María S. Vigo por la desinteresada colaboración prestada en todo momento.

a mis compañeros de Bromatología y Microbiología de Alimentos por su sincera y cordial amistad.

Agradezco también

a las autoridades y técnicos de la Estación Experimental Marcos Juárez del INTA, por haber provisto las 49 variedades de poroto de soja estudiadas.

al Dr. Agustín Santone, Jefe del Departamento de Investigación y Control de calidad de la firma Molinos Río de la Plata S.A. por haber facilitado la cascarilla industrial de poroto de soja (Brasil).

al Ing. Pérez Felipoff, Presidente del Consejo de Investigación de la Universidad Nacional de Salta, por la provisión de la cascarilla semiindustrial de poroto de soja de la var. Bragg.

a la Dra. Julia F. P. de Albinati, Directora del Departamento de Química Inorgánica, Analítica y Química Física, por permitir el uso de pHmetro Metrohm mod. E 353 B para la determinación de la actividad ureásica.

A mis Padres

- I -

- INTRODUCCION -

1.- Origen.

2.- Producción nacional y mundial.

3.- Antecedentes sobre Características y Composición.

4.- Valor nutritivo - Factores biológicos y fisiológicos.

a) Valor nutritivo

b) Factores biológicos y fisiológicos

b_1) Inhibidores de proteasas

b_2) Fitohemaglutininas (Lectinas)

b_3) Factores goitrogénicos

b_4) Saponinas

b_5) Flatulencia

5.- Usos de la soja.

1.- Origen

La Soja, Glicine max(L)Merril, es una Leguminosa originaria del Este de Asia, actualmente República de Vietnam. Su cultivo era conocido en China hace 5000 años, de donde pasó a Indonesia en el siglo XVII y de allí a Polinesia. A través de las islas Molucas pasó a Indostán, Ceilán, Palestina y Norte de Africa.

El primer europeo que la menciona fue probablemente el botánico alemán Engebert Kaempfer que vivió en Japón durante 1691-1692 y describió la soja en su libro "AMOENITATUM AXOTICARUM POLITICO PHYSICOMEDIARUM" en 1712. Linneo la menciona en 1752.

Friedrich Haberlandt, profesor de la Universidad de Viena, fue el primero en llamar la atención de los europeos sobre las proteínas de la soja.

La soja llega a los Estados Unidos en el año 1805; en 1898 se cultivaron ocho variedades y en 1928 ya tenían 30. Primero se cultivó como forrajera para reemplazar a la harina de torta de algodón.

En el mercado europeo llega la soja a principios del siglo XX, en el año 1901 arriba el primer barco transportando soja a Londres y en 1908 a Hamburgo. Se utilizaba el aceite para fabricar jabón y la torta para alimento de ganado[1,2].

En 1889, Carlos Vigoreux, Cónsul argentino en Niza, se ocupó de esta especie al elevar al Ministerio de Relaciones Exteriores una memoria sobre la utilidad que podría reportar a la Argentina el cultivo de la soja.

En 1909 se realizaron los primeros ensayos con cultivares de esta especie en la "Estación Experimental Agronómica de Córdoba".

En 1923-24 el Ministerio de Agricultura de la Nación, por iniciativa

de su Ministro Tomás Le Breton, introdujo varias decenas de cultivares para ser ensayados en varias zonas del país y en una circular de dicho Ministerio, se afirmó que el Ministerio de Agricultura cosecharía en 1924 unas 30 toneladas de semilla en una parcela de Entre Ríos, que sería ofrecida para ensayar a quien lo solicitara.

Durante los años 1929-1931 los técnicos del Fomento Agrícola del Ferrocarril Oeste sembraron experimentalmente una colección de cultivares importados por dicha empresa, obteniéndose buenos resultados.

Entre los años 1931-1932 una importante empresa distribuyó entre los agricultores 300 toneladas de semilla de soja que fueron sembradas en una 6000 hectáreas con el objeto de abastecer a una fábrica de aceite de Río II (Córdoba), pero la escasa producción y los bajos precios fueron motivo para abandonar el cultivo.

La superficie cultivada se incrementó en el bienio 1942-1943 llegando a 12.000 hectáreas. En 1943 la producción del país fue de 3214 toneladas. A pesar de la escasa producción, debe señalarse que en 1940 se instaló en el país una fábrica de productos alimenticios dietéticos cuya base fue la harina de Soja.

En el año 1955 una empresa industrial, después de realizar una prolija investigación en Estados Unidos, Méjico y América Central, importó una colección de cultivares y de inoculantes facilitados por el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos. Con este material se realizaron ensayos en 34 lugares distintos del país abarcando las provincias de Salta, Misiones, Chaco, Santa Fe y Buenos Aires. En razón de los buenos resultados obtenidos en dichos ensayos en 1956 se importaron 240 toneladas de semilla aunque solo se

cultivaron 1423 hectáreas debido principalmente a factores meteorológicos adversos. A pesar de todo se obtuvieron rendimientos máximos de 2400 kg/ha.

En 1958 la Facultad de Agronomía y Veterinaria de la U.B.A., por intermedio de las Cátedras de Cultivos Industriales y de Climatología y Fenología agrícolas, se dedicó al estudio de las propiedades del cultivo de la soja.

El análisis de las características fenológicas de cinco años de siembras continuadas durante todo el biperíodo posible para la especie en el ambiente de Buenos Aires, permitió ratificar que los cultivares de soja tienen exigencias bioclimáticas extraordinariamente diferentes según el grupo de precocidad al que pertenezcan.

En el año 1965 la Secretaría de Agricultura y Ganadería fijó por primera vez en el país un precio mínimo oficial para la semilla de soja, dando así un paso trascendente para la expansión del cultivo.

Por medio del Decreto 4406/72 el cultivo de soja fue declarado de interés nacional.

En 1973 la Secretaría de Agricultura y Ganadería importó 120 toneladas de semilla, especialmente cultivares semiprecoces de los que tanta necesidad tenía el país en su zona sojera más austral.

La superficie y la producción de soja permanecieron estacionarias hasta la campaña agrícola 1969-1970 inclusive, con una producción que osciló entre 20.000 y 30.000 toneladas. En la campaña agrícola 1970-1971 si bien la superficie sembrada no fue muy superior a la de años anteriores, los altos rendimientos obtenidos elevaron la producción a 59.000 toneladas.

La provincia de Santa Fe se destaca como la principal productora; aquí la soja reemplazó casi totalmente al girasol de segunda siembra, con lo

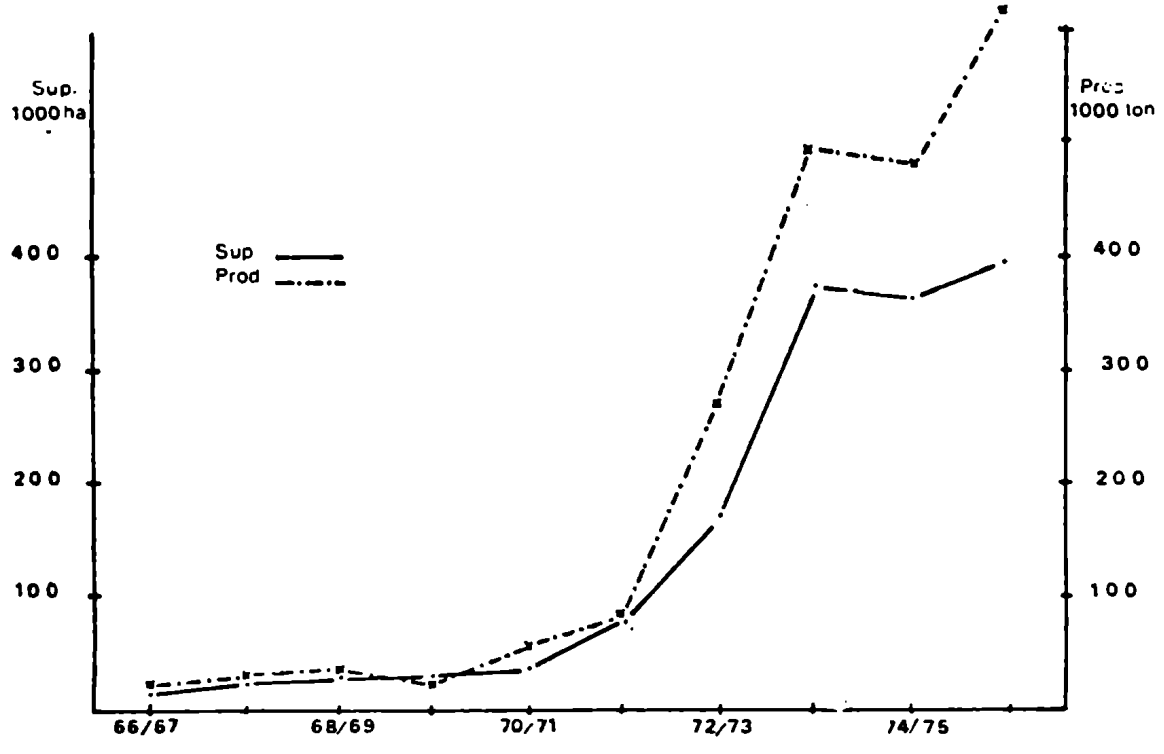
cual se ha ganado en producción y fertilidad de los suelos.

La provincia de Buenos Aires recién en la campaña 1973-1974 destinó una importante superficie al cultivo de la soja.

En Córdoba existe gran interés por el cultivo de la soja, lo que se ha demostrado en la campaña 1974-1975 en la que se sembraron aproximadamente 48.000 hectáreas.

Chaco, Salta, Jujuy, Corrientes y otras provincias hasta ahora han dedicado poca superficie al cultivo de la soja si bien existen en ellas zonas que posibilitarán la expansión futura.

Superficie cultivada y producción de soja en la Argentina



En la figura anterior se puede observar que los rendimientos por hectárea permanecieron estacionarios varios años, oscilando sus valores alrededor

de 1100 kg/Ha. A partir de la cosecha 1970-1971 los rendimientos aumentan considerablemente lo que es atribuible a las condiciones climáticas favorables y al perfeccionamiento en las técnicas del cultivo[3].

2.- Producción Nacional y Mundial

Hace una década, la promoción de la soja en el país se fundamentó en la creciente necesidad del mercado interno en alimentos balanceados, donde la disponibilidad de harina de soja constituía un insumo crítico que incluso debía importarse.

Así la Argentina pasa de un país importador a exportador y en 1973 se comenzaron a exportar volúmenes significativos de aceite, harina en 1974 y soja en grano en 1976. En ese año se exportaron 180.000 toneladas de harina, 80.000 de grano y 45.000 de aceite.

El aumento de la producción permitió demostrar a la Argentina que puede participar en el mercado internacional en igualdad de condiciones que los grandes proveedores mundiales: Estados Unidos y Brasil, que son los únicos exportadores de importancia.

Las posibilidades de expansión en el país son óptimas: disponibilidad de una vasta extensión de territorio con aptitud para la soja, especialmente en las regiones norte y pampeana donde constituye un cultivo muy útil para promover la diversificación; el desplazamiento de otros marginales y la incorporación en el ciclo de rotación de una leguminosa que contribuye a recuperar la fertilidad[4].

Actualmente la soja se cultiva en tres regiones: la pampeana (concentrada en el sur de Santa Fe y norte de Buenos Aires), el nordeste y el Noroes-

te. En cada una de ellas hay características propias como consecuencia de los distintos ambientes ecológicos en que se desarrolla.

En el área pampeana, donde el cultivo continuado de cereales está provocando una pérdida de fertilidad del suelo, la incorporación de la soja se ha convertido en una solución real.

En la región Noroeste si bien las posibilidades son promisorias, su difusión en áreas apropiadas se ve restringida por el buen comportamiento y rentabilidad de rubros competitivos como el poroto y la caña de azúcar[4].

Mientras que en el año 1946, la producción mundial[5] fue del orden de 15 millones de toneladas, en 1978 creció a casi 80 millones y no cabe duda que antes de fin de siglo superará los 100 millones de toneladas.

En el año 1938 Asia exportaba el 87% de toda la semilla de soja producida en el mundo, en tanto que en Occidente Estados Unidos completaba el 13% restante. Ahora esta relación se ha modificado radicalmente. En 1978 la producción de los Estados Unidos fue de 49 millones de toneladas. Asimismo Brasil, que en el año 1946, según el Anuario Estadístico de las Naciones Unidas registró una producción de apenas 13.000 toneladas, obtuvo sorprendentes resultados y para el año agrícola 1978-1979 la cosecha fue superior a los 11 millones de toneladas de semilla. La producción mundial de soja ha venido aumentando a una tasa anual del 5,2%[6].

El éxito obtenido por el cultivo de la soja, especialmente en los Estados Unidos y Brasil, facilitó la formación de un gran mercado internacional de semilla, aceite, harina y torta de soja. En el cuadro siguiente podemos ver la magnitud del comercio mundial[7]:

Exportaciones Mundiales en 1977

Producto	Toneladas	%	U$S	%
Semilla	19.996.356	58,9	5.467.405.000	58,5
Aceite	2.110.998	6,1	1.209.180.000	13,0
Harina y Torta	11.850.180	34,9	2.666.624.000	28,5
Total	33.957.534	100,0	9.343.209.000	100,0

Durante un cuarto de siglo los Estados Unidos monopolizaron el mercado, pero en el último decenio, ese privilegio fue interferido por exportaciones de Brasil y de otros productores.

Ya en 1977 el mercado mundial de la soja se distribuía de la siguiente manera[7]:

Exportaciones según países en 1977

PAIS	TONELADAS	%
E.E.U.U.	21.160.409	62,3
Brasil	8.417.986	24,8
Argentina	390.100	1,2
Resto del mundo	3.989.039	11,7

Para nuestro país los resultados comienzan a ser alentadores, la producción del año agrícola 1978-1979 fue de 3.800.000 toneladas y se puede estimar para 1980-1981 una producción del orden de 5 millones de toneladas.

Las informaciones estadísticas de la Secretaría de Agricultura y Ganadería de la Nación[8] nos permiten presentar el siguiente cuadro:

Producción de Soja en el año agrícola 1977-1978

Provincias	Has. Cosechadas	%	Toneladas	%	Rto kg/Ha
Santa Fe	680.000	61,8	1.600.000	66,7	2353
Córdoba	130.000	11,8	286.000	11,9	2200
Buenos Aires	130.000	11,8	280.000	11,7	2154
Tucumán	52.600	4,8	95.000	3,9	1806
Corrientes	40.000	3,6	37.000	1,5	925
Misiones	30.000	2,7	29.000	1,2	967
Entre Ríos	15.300	1,4	33.000	1,4	2157
Salta	12.000	1,1	23.700	1,0	1975
Otras Prov.(+)	10.100	1,0	16.300	0,7	1250
Total	1.100.000	100,0	2.400.000	100,0	2182

(+) Chaco, Santiago del Estero, Catamarca y Formosa.

En él se documenta la implantación de la soja en nuestro país como un hecho irreversible. Nos indica además que la zona de la pampa húmeda es el escenario geográfico principal donde se opere este cultivo registrándose en esta región el 85,4% del área cosechada y una producción que cubre el 90,3% del total.

Los rendimientos obtenidos por hectárea superan a los de cualquier país del mundo como puede verse en el cuadro siguiente[9]:

Producción mundial de soja año 1977

Paises	Area Cosechada	Producción de Semillas en Tn	Rto. kg/Ha
Argentina	680.000	1.400.000	2182
Brasil	7.059.000	12.513.000	1773
China Popular	14.236.000	13.055.000	917
Estados Unidos	23.908.000	46.710.000	1947
Resto del Mundo	3.309.000	4.336.000	1109
Total	49.864.000	77.100.000	1546

Este hecho se debe a que la amplia región de la pampa húmeda reúne condiciones ecológicas excepcionales: topografía de los terrenos, fertilidad del suelo, comportamiento climático, condiciones no superadas en el resto del mundo.

3.- Antecedentes Sobre Características y Composición

Piper y Morse[10] señalan los resultados del análisis de 100 variedades de poroto de soja entero provenientes del Departamento de Agricultura del Gobierno de los Estados Unidos, obteniendo un rango en base seca del 12 al 24% de aceite y un 30 al 46% en el contenido de proteína. En la tabla siguiente podemos apreciar un promedio de 10 variedades de poroto de soja entero[11,12].

Componente	Rango de composición (+) Mínimo %	Máximo %	Promedio %
Cenizas	3,67	5,90	4,99
Aceite	14,95	22,95	19,63
Fibra cruda	4,34	7,60	5,52
Hidratos de carbono (totales como sacarosa)	2,70	11,97	7,97
Proteina cruda (N x 6,25)	36,62	53,19	42,78
Fosforo	0,419	0,822	0,659
Potasio	1,29	2,17	1,67
Calcio	0,163	0,470	0,275

(+) Datos sobre base seca.

Se llegó a la conclusión que el contenido de aceite de la semilla de soja es una función de la variedad. Aunque los factores ambientales producen algunos cambios en la composición, no influencian la clasificación relativa de una variedad en cuestión cuando es comparada con otra variedad en % de aceite, proteína, fósforo y contenido en calcio. Las investigaciones indican también que la variedad tiene más influencia en la composición química del poroto de soja que la que tiene el medio ambiente.

Watt y Merrill[13] en un extenso informe señalan la composición para la harina de soja desgrasada:

	Agua %	Prot. %	Grasa %	Fibra cruda %	H. de C. %	Cenizas %	Ca mg%g	P %
Harina de soja desgrasada	8,0	47,0	0,9	6,0	38,1	6,0	260	0,655

En las harinas desgrasadas se ha estudiado intensamente la fracción de hidratos de carbono, encontrándose que los oligosacáridos, que conforman cerca de 15% de la harina, consisten en sacarosa, staquiosa y rafinosa, mientras que algunas harinas comerciales contienen también polisacáridos provenientes de la cáscara, aunque en bajo nivel, dependiendo del grado de descascarado. Los oligosarâridos, rafinosa y staquiosa han sido implicados como factores causantes de la flatulencia que se experimenta cuando se consumen alimentos conteniendo soja.

La próxima tabla muestra las diferencias de composición entre varias clases de harina comercial proveniente de semilla descascarada[14]

Producto	Humedad %	Proteína (N×6,25) %	Grasa %	Fibra Cruda %	Cenizas %
Harina desgrasada	5,0	53,0	0,9	2,9	6,0
Harina con toda la grasa	5,0	41,5	21,0	2,1	5,2
Harina parcialmente desgrasada	5,5	46,0	6,5	3,0	5,5

Antes de la molienda[15] la semilla de soja es lavada para remover la suciedad y pequeñas piedras que puedan estar presentes. Desde los lavaderos los porotos pasan a un proceso de secado con calentamiento constante. Después de este acondicionamiento de la semilla, se remueve la cáscara por un sistema especial de rodillos, tamices y aspiradores para producir endosperma pura. Este producto es triturado en molinos produciendo un flujo de harina que alimenta a un clasificador. La fracción gruesa retorna al molino para un nuevo procesado y la harina fina es enviada a la empaquetadora. La tabla siguiente muestra la composición típica de este producto:

Componente	%
Proteína (N x 6,25)	40,5
Aceite (incluye 2% de lecitina)	20,5
Humedad	6,6
Fibra cruda	2,3
Cenizas	4,5
H. de Carbono (por diferencia)	25,6

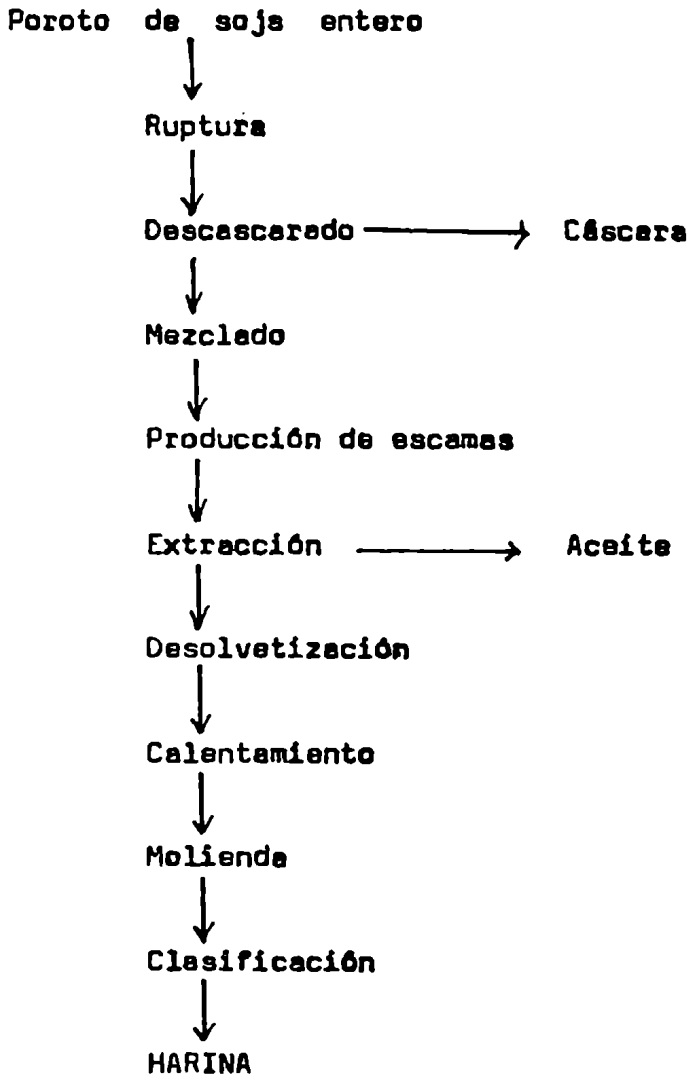
Los rangos de composición que fueron encontrados en soja estadounide se fueron: para proteína entre 38,5 y 43,0 %, para aceite entre 19,1 y 23,0 y para humedad entre 4,6 y 7,7% teniendo en cuenta las cosechas entre 1969 1974.

La cantidad de fibra en la harina es una medida de la eficiencia de la separación de la cáscara del endosperma. El endosperma puro contiene 2,0 de fibra mientras que la cáscara contiene un 50%.

Las harinas desgrasadas son la fuente más barata de proteína de soja teniendo estas harinas propiedades funcionales que las hacen muy versátiles como ingredientes en alimentos.

Para comprender la contribución de las harinas desgrasadas de soja a los alimentos es esencial que tengamos un adecuado conocimiento de la composición, valor nutritivo y funcionalidad de estos productos.

En la figura siguiente se ilustran los pasos que se siguen en la producción de harina desgrasada[16]:



El control preciso del grado de tratamiento térmico dado a las es
desgrasadas durante el proceso de desolvetización y durante el paso sigu
es crítico dado que tanto el valor nutritivo como la funcionalidad depen
directamente del grado de tratamiento térmico. Un análisis aproximado de
na de soja desgrasada se presenta a continuación:

Análisis de Harina de soja desgrasada[16]

Componente	%
Proteína (N x 6,25)	51,5
Nitrógeno	8,2
Humedad	7,0
Extracto etéreo	1,0
Grasa (Hidrólisis Acida)	3,5
Fibra cruda	3,0
Cenizas	5,8
Carbohidratos	30,0

Algunos investigadores[17,18] han cuestionado el factor 6,25 de conversión de N a proteína. Hay un acuerdo general que un factor de conversión menor que 6,25 representaría más fielmente el contenido en proteína del producto de soja, aunque el factor 6,25 continúa siendo usado por agrónomos, comerciantes y varias asociaciones técnicas.

A continuación podemos observar el perfil de aminoácidos de la harina de soja desgrasada:

Aminoácidos esenciales	g/16gN	g/100g harina
Cistina	1,22	0,62
Isoleucina	4,69	2,39
Leucina	7,90	4,03
Lisina	6,25	3,19
Metionina	1,27	0,65
Fenilalanina	5,27	2,69
Triptofano	1,27	0,65
Valina	5,08	2,59
Treonina	3,86	1,97

Aminoácidos no esenciales	g/16gN	g/100g harina
Alanina	4,39	2,24
Arginina	7,06	3,60
Aspártico	11,78	6,01
Glutánico	19,61	10,00
Glicina	4,33	2,21
Histidina	2,84	1,45
Prolina	5,22	2,66
Serina	4,92	2,51
Tirosina	3,78	1,93

Se han realizado grandes esfuerzos para comparar el contenido en aminoácidos de distintas variedades con especial énfasis en la metionina que es el primer limitante[19]. Aún no ha sido encontrada ninguna variedad que contenga concentraciones significativamente más altas de metionina. Sin embargo se indica que la metionina se incrementa con el incremento de proteína.

Una aplicación importante de la harina desgrasada de soja involucra su combinación con cereales. Su adición eleva la cantidad y calidad de la proteína. La cantidad de proteína es elevada porque la harina de soja desgrasada contiene más proteína que los otros cereales como se muestra en la próxima tabla[16]:

	Harina Soja	Harina Trigo Durun	Harina Maiz Degerminada	Arroz	Cebada
Proteína (a)	47,0	12,7	7,9	6,7	14,2
Humedad %	8,0	13,0	12,0	12,0	8,3
Grasa %	0,9	1,2	1,2	0,4	7,4
Fibra %	2,3	0,6	0,6	0,3	1,2
Ceniza %	6,0	0,5	0,5	0,5	1,9

(a) Factores de conversión de N a Proteína: Soja Nx 5,71, Trigo durum Nx 8,83, Maiz nX 6,25, Arroz Nx 5,95, Cebada Nx 5,83.

La proteína del maíz es marcadamente deficiente en lisina, pero no en metionina; la proteína de soja es rica en lisina pero moderadamente baja en metionina. Las dos proteínas se pueden suplementar[19].

Entre 1969 y 1972 en los Laboratorios de Bromatología de la Facultad de Ciencias Exactas de la Universidad de Buenos Aires, Becarios de la OEA realizaron estudios de composición química de harinas de extracción (hexano) de distintas variedades de semilla de soja cosechadas en algunos países de Latinoamérica (Ecuador, Perú, Paraguay y Colombia).

En la Tabla 1 se vuelcan los resultados obtenidos en cada caso[20].

Cáscara de poroto de soja.

Durante el procesado del poroto de soja, un importante subproducto es la cáscara que es removida separándose del endosperma. Esta cáscara sufre un proceso de calentamiento, luego se muele y se utiliza en la formulación de alimento para ganado[21].

Rackis y col.[22] determinan la composición de aminoácidos de las proteínas de la cáscara del poroto de soja, señalando que las proteínas de la cáscara contienen glicina e hidroxiprolina en cantidades inusuales, mientras que la lisina es mayor que en las respectivas harinas aunque los valores para arginina, fenilalanina, metionina, isoleucina y leucina son un 20% más bajos. Por lo tanto estas proteínas tienen un bajo valor biológico.

4.- Valor nutritivo - Factores Biológicos y Fisiológicos.

a) Valor nutritivo.

Desde el punto de vista nutricional, la soja puede jugar un rol significativo en por lo menos tres aspectos: a) como fuente de proteína para com-

plementar o suplementar, b) como fuente de calorías y c) como una fuente de N.

El rol de proteína es probablemente el más importante para los sistemas alimentarios de pueblos desarrollados y subdesarrollados.

Como la mayoría de los alimentos procedentes de leguminosas, la soja cruda reduce la ganancia de peso y la relación de eficiencia proteica (REP). Sin embargo, de un proceso de calentamiento, en condiciones perfectamente controladas resulta, en todos los casos, un mejoramiento en el crecimiento y en la calidad de la proteína (mayor REP).

Los resultados muestran que la proteína de soja es deficiente en aminoácidos azufrados (metionina y cistina) y el agregado de metionina mejora notablemente el aumento de peso y la calidad.

Se ha demostrado que la proteína de soja posee una calidad menor que las proteínas animales y que mejora si se suplementa con metionina, su aminoácido limitante. Por otro lado la proteína de soja en una muy buena fuente de lisina, aminoácido deficiente en la mayoría de los cereales. Debido a su patrón característico de aminoácidos esenciales, el gran potencial nutricional de la proteína de soja está relacionado a la contribución que puede hacer para balancear la composición en aminoácidos esenciales deficientes en cereales[23,24].

La deficiencia en aminoácidos azufrados que caracteriza a la proteína de la mayoría de los productos de soja puede ser minimizado por combinación con otras proteínas que no sean deficientes en esos aminoácidos. Es posible combinar las proteínas de soja con otras proteínas obteniendo un producto nutricionalmente superior a cada una de ellas por separado. Por ejemplo, el

valor biológico de la harina de trigo que es 41, puede ser incrementado a 55 si a la harina de trigo se agrega un 19% de harina de soja.

La proteína de soja tiene a su vez un marcado efecto suplementario en el valor nutritivo de la proteína de maíz, particularmente en la relación 40% de proteína de maíz y 60% de proteína de soja.

La REP de harina de maíz se incrementa de 1,0 á 2,5 por agregado de un 8% de aislado proteico o un 10% de harina de soja.

En estudios con niños se ha demostrado también el efecto suplementario de la harina de soja con proteína de arroz. Mezclas de harina de soja y de arroz han sido ingeridas por niños y se han confirmado crecimientos comparables a los que resultan de la leche de vaca, aunque la digestibilidad de la mezcla es algo menor que la de la leche de vaca.

Una preparación de pasta alimenticia (fideos) conteniendo 18% de proteína de las cuales el 10% derivan de harina de soja sin desgrasar y el 8% de arroz obtuvo una REP de 2,56 comparado con el valor de 2,17 para el arroz solo y de 2,5 para la caseína usada como control.

La significancia del contenido de fibra cruda de la dieta ha recibido una considerable atención dado su posible rol en la reducción de la incidencia de tumores de colon.

La fracción de hidratos de carbono totales que pueden ser clasificados como fibra cruda depende por supuesto del producto de soja de que se trate. El rango de valores de fibra cruda estaría entre 0,1% o menos para leche de soja o cuajada a 5% para el poroto entero. Cerca de la mitad de esta fibra cruda en el último caso es atribuida a la cáscara, la fibra cruda de los productos de soja se reduce por lo tanto al remover esta cáscara.

Cuando los productos de soja son consumidos como parte de una dieta balanceada, difícilmente puedan ser considerados una buena fuente de vitaminas. Sin embargo, cuando se consume en la forma de un suplemento rico en proteína a una dieta basal que puede ser deficiente en vitaminas así como en proteína, la contribución en vitaminas de la soja debe asumir un rol decisivo en el mantenimiento de la salud.

El β-caroteno, precursor biológico de la vitamina A, está presente en los porotos de soja verdes inmaduros entre 2 y 7 μg por gramo, mientras que los porotos de soja maduros contienen una cantidad significativamente menor. El β-caroteno de la leche de soja es alrededor de la mitad del presente en la leche de vaca.

El poroto y los productos de soja se consideran exentos de vitamina D. Si la leche de soja se usa para reemplazar a la leche de vaca, debe ser suplementada con vitamina D.

Toda la vitamina E presente en productos de soja está contenida en el aceite (hasta 1,4 μg/g de aceite).

En comparación con los cereales, los productos de soja son claramente buenas fuentes de vitaminas del complejo B. Debido a que es termolábil, la tiamina está presente en menor cantidad en productos procesados por calor. Pérdidas de tiamina entre 10 y 75% han sido mencionadas para productos de soja calentados en distintas condiciones.

La leche de soja retiene 50-90% de la tiamina, 90% de la riboflavina y 60-80% de la niacina que se encuentran en el poroto de soja. Cuando se prepara la cuajada de leche de soja cerca de la mitad de la tiamina y la cuarta parte del ácido nicotínico son retenidos, mientras que el contenido de ribo-

flavina es equivalente al del poroto original.

En contraste con la alta disponibilidad de calcio de la leche de soja (extracto acuoso de poroto entero sometido a calentamiento) y de la cuajada (preparada a partir de leche de soja por agregado de sales de calcio), la disponibilidad de calcio del poroto de soja entero es bastante menor. La leche de soja contiene alrededor de 0,08% de calcio. Se ha señalado que sólo el 10% del calcio del poroto de soja cocido puede ser utilizado efectivamente por el hombre. Experiencias realizadas con animales permiten sugerir que el ácido fítico contenido en el poroto de soja interfiere en la disponibilidad de calcio. Aunque la soja contiene dos veces más fósforo que muchos cereales, aproximadamente de un tercio a la mitad del mismo está presente como ácido fítico. La disponibilidad del fósforo cuando se presenta como ácido fítico depende de la especie y de la edad del animal. Así el fósforo de ácido fítico del poroto de soja puede ser utilizado por la rata pero no por el pollo.

Al presente no se han conducido experiencias con seres humanos para determinar directamente la disponibilidad de fósforo del poroto de soja.

Si bien la soja contiene una apreciable cantidad de zinc, se ha estimado en experimentos con ratas que solo el 44% está disponible[25].

b)Factores biológicos y fisiológicos.

La harina de soja cruda desgrasada ó no inhibe el crecimiento, la absorción de grasa, reduce la digestibilidad de las proteínas, causa hipertrofia pancreática, estimula la hiper e hiposecresión de enzimas pancreáticas y reduce la disponibilidad de aminoácidos, vitaminas y minerales.

Entre los inhibidores de proteasas los inhibidores de tripsina son los más ampliamente estudiados.

Kakade y col. encontraron un amplio rango en los valores de actividad de inhibidor de tripsina en 108 variedades de semilla de soja.

Con la demostración de la labilidad frente al calor del inhibidor de tripsina de la soja, quedó aceptado que el efecto benéfico de este tratamiento estaba estrechamente vinculado a su destrucción. Los valores nutritivos se incrementan entre el 60 y el 180% después del tratamiento en autoclave.

La calidad de la proteína es evaluada en términos de REP. De todos los parámetros examinados, sólo el peso del páncreas mostró una significativa relación inversa con la REP. No hay ninguna correlación entre la REP y el total de aminoácidos azufrados, actividad de inhibidor de tripsina o actividad hemaglutinante.

Aparentemente otros factores están involucrados en la determinación del valor nutritivo de la harina de soja en la cual los factores lábiles han sido destruídos. Por tratamiento con vapor vivo, proceso denominado tostado, el valor nutritivo de la harina de soja desgrasada o no, aislados y concentrados proteicos de soja puede mejorarse notablemente.

Con solo 10 á 15 minutos de vapor a presión atmosférica la REP de productos de soja llega a ser máxima. El calentamiento seco no tiene efecto, mientras que un calentamiento excesivo perjudica el valor nutritivo. Una REP máxima se logrará cuando sea destruído un 79% de la actividad de inhibidor de tripsina. Con una destrucción del 50 al 60% no ocurrirá hipertrofia pancreática.

b_1) Inhibidores de Proteasas.

El número de los inhibidores de tripsina presentes en la soja es aún desconocido, pero dos de ellos han sido aislados y su estructura primaria es actualmente conocida.

El inhibidor de Bowman-Birk consiste en un polipéptido simple que contiene 71 aminoácidos, con un peso molecular de 7861. Es la menor proteína encontrada en la soja, pero en soluciones al 0,1% se asocia en dímeros y posiblemente en trímeros.

Este inhibidor tiene la capacidad de inhibir a la tripsina y a la quimotripsina simultáneamente. El sitio de inhibición de la tripsina es Lisina^{16}-Serina^{17}, mientras que el que inhibe a la quimotripsina es Leucina^{43}-Serina^{44}.

Los siete puentes disulfuro que posee hacen rígida a la molécula y consecuentemente es estable al calor, ácidos y digestión proteolítica. El inhibidor de Browman-Birk es el responsable de la actividad de inhibidor de tripsina remanente en productos de soja tostados.

La estructura primaria del inhibidor de Kunitz tiene 181 aminoácidos y un peso molecular de más del doble que el inhibidor de Bowman-Birk. Posee solo dos puentes disulfuro, uno de ellos conecta los residuos 39 y 86 y el otro forma un pequeño "loop" conectando los residuos 136 y 145. El centro activo de este inhibidor es Arginina^{63}-Isoleucina^{64}.

Se cree que el inhibidor interactúa con la tripsina pues semeja ser un buen sustrato para la enzima.

Quizás la observavión más significativa que ultimamente ha contribuido a un mejor entendimiento del modo de actuar del inhibidor de tripsina de la soja fue el hecho que el poroto de soja entero y el inhibidor de tripsina por

sí mismo causaban hipertrofia pancreática, efecto que era acompañado por un incremento en la actividad secretoria del páncreas.

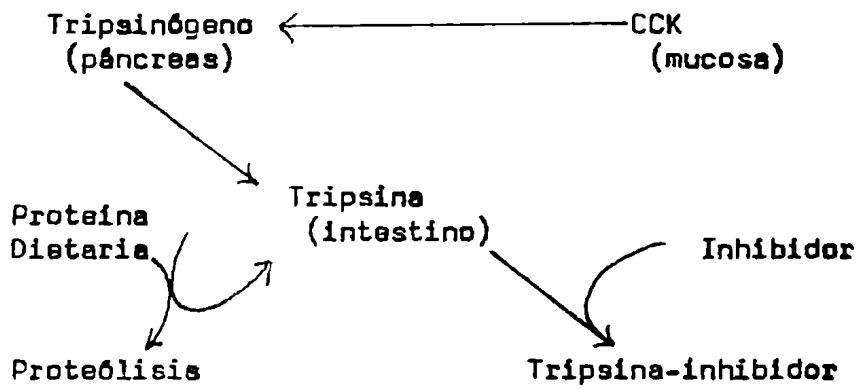
Esto lleva a la idea que la depresión del crecimiento causada por el inhibidor de tripsina debe ser la consecuencia de una pérdida endógena de aminoácidos esenciales secretados por un páncreas hiperactivo. Siendo las enzimas pancreáticas, tal como la tripsina y la quimotripsina, particularmente ricas en aminoácidos azufrados, la hipertrofia pancreática causa un empobrecimiento en el tejido de esos aminoácidos particulares, a fin de satisfacer una necesidad creciente para la síntesis de esas enzimas. Esta pérdida en aminoácidos azufrados sirve para acentuar una situación crítica con respecto al poroto de soja, que inherentemente es deficiente en esos aminoácidos.

El mecanismo por el cual el inhibidor de tripsina induce agrandamiento del páncreas no está aún completamente dilucidado.

La secreción pancreática está controlada por un mecanismo de inhibición por "feedback" que depende del nivel de tripsina y quimotripsina presente a un dado tiempo en el intestino delgado. Cuando el nivel de esas enzimas cae debajo de ciertos valores críticos, el páncreas es inducido a producir más enzima.

La represión de la inhibición por "feedback" negativa puede ocurrir si la tripsina se compleja con el inhibidor ó por la proteína misma de la dieta. Se cree que el agente mediador entre la tripsina y el páncreas es la hormona colecistoquinina (CCK) que es secretada en la mucosa intestinal cuando el nivel de tripsina en el intestino baja de un nivel adecuado. La siguiente figura refleja lo expresado anteriormente:

Regulación de la secreción de tripsina por el páncreas



Si la actividad del inhibidor de tripsina es removida por cromatografía de afinidad sobre Sefarosa-tripsina, el extracto resultante es aún capaz de causar inhibición del crecimiento e hipertrofia pancreática.

Contribución del I T a la inhibición del crecimiento y a la hipertrofia pancreática.

Fuente proteina	REP	Peso páncreas g/100g peso corporal
Extracto harina soja sin calentamiento	1,4	0,71
Extracto harina soja calentada	2,7	0,57
Extracto harina soja (a) sin inhibidor	1,9	0,65

I T: inhibidor de tripsina

(a) El I T es removido por pasaje del extracto de soja sin calentar por una columna de Sefarosa-tripsina.

De estos datos se puede estimar que los inhibidores de tripsina son responsables de cerca del 40% de la inhibición del crecimiento observado con

porotos de soja crudos. Es significativo también notar que sólo cerca del 40% del agrandamiento del páncreas producido por la ingestión de soja cruda es atribuido al inhibidor de tripsina.

Se ha sugerido que la proteína de la soja es así mismo reacia al ataque enzimático a no ser que sea desnaturalizada por calor.

El inhibidor de tripsina y la naturaleza reacia de la proteína de soja a ser atacada por enzimas actúan a través de un mecanismo común para inhibir el crecimiento en ratas. (Ver REP en el cuadro anterior).

La mayoría de las experiencias han sido conducidas con ratas como modelo experimental. Muchos productos de soja disponibles en el mercado actualmente pueden contener tanto como un 30% de la actividad de inhibidor de tripsina del poroto entero. Un examen de la actividad de inhibidor de tripsina de varios análogos de carne texturizados durante el curso de su manufactura, reveló que si bien el aislado proteico era rico en actividad de inhibidor de tripsina, esta actividad era reducida a niveles muy bajos en el producto final.

Recientemente se demostró que el tratamiento por calor involucrado en el proceso de esterilización de alimentos para niños conteniendo aislados proteicos de soja reducen la actividad del inhibidor de tripsina a menos del 10% de la actividad original del aislado.

Esta actividad residual no produce reducción en el peso ni hipertrofia pancreática en ratas.

Estas observaciones coinciden con lo afirmado por Rackis, quien encontró que no ocurría hipertrofia pancreática en ratas alimentadas con harina de soja a la que solamente se le había destruída el 54% de la actividad de in-

hibidor de tripsina y la máxima REP corresponde a una destrucción del 80%.

El incremento en crecimiento y REP debe ser atribuido a un incremento en la digestibilidad de la proteína más que a una destrucción del inhibidor de tripsina.

El inhibidor de tripsina de la soja es relativamente inefectivo contra la tripsina humana; el páncreas humano sería insensible a los efectos del inhibidor de tripsina.

b_2) Fitohemaglutininas (Lectinas).

Es bien conocido que, además de inhibidores de proteasas, muchas legumbres y cereales contienen sustancias llamadas fitohemaglutininas ó lectinas que tienen la propiedad de unirse a una gran variedad de sustancias biológicas. Con respecto a los glóbulos rojos, la interacción de lectinas con glicoproteínas presentes en la superficie de la célula se manifiesta "in vitro" por una aglutinación de la célula.

La soja contiene varias lectinas estimadas entre el 1 y el 3% de las proteínas de la harina desgrasada.

Las lectinas de la soja serían glicoproteínas conteniendo D-manosa y N-acetil-D-glucosamina, con un peso molecular de 120.000.

Como el inhibidor de tripsina, son destruídas rápidamente por el calor y esta destrucción está acompañada por un marcado aumento del valor nutritivo de la proteína.

La lectina de soja es un factor que contribuye relativamente poco al pobre valor nutritivo del poroto de soja entero crudo.

La REP es esencialmente la misma si se remueven las lectinas.

El efecto tóxico, cuando se ingieren oralmente, puede ser debido a su habilidad para unirse a sitios receptores específicos sobre la superficie de las células del epitelio intestinal, resultando así una interferencia con la absorción de nutrientes a través de las paredes intestinales. Esto fue reflejado "in vivo" por un decrecimiento en la digestibilidad de la proteína cuando lectina pura era agregada a una dieta conteniendo caseína.

b_3) Factores goitrogénicos.

Los factores goitrogénicos son agentes antitiroideos que inhiben la fijación de yodo por la glándula tiroides del organismo.

El tratamiento por calor elimina la mayoría de la actividad goitrogénica.

El factor goitrogénico es un oligopéptido de 2 ó 3 aminoácidos o un glicopéptido y ha sido aislado de suero de soja.

El factor goitrogénico de la soja es débil y el agregado de yodo a la dieta en pequeñas cantidades es suficiente para superar ese defecto.

b_4) Saponinas.

Son glicósidos formados por sapogenina y diversos azúcares. La sapogenina es un esteroide o un triterpeno, los azúcares son pentosas especialmente d y l-arabinosa, d-xilosa y l-ramnosa.

Las saponinas tienen propiedades hemolíticas y espumantes, no existiendo ningún paralelismo entre cantidad de espuma y acción hemolítica. Las saponinas disminuyen la tensión superficial y forman complejos con las proteínas y los lípidos.

La semilla de soja posee 5 saponinas distintas; el contenido en sapo-

ninas es del 0,5% y su efecto es igualmente espumante y hemolítico, así como el inhibir inespecíficamente a la colinesterasa y la quimotripsina. No obstante su adición al alimento de ratones, ratas y gallinas del 0,5 al 3% de extractos que contienen saponinas que representan una concentración triple de la de una dieta con 50% de semilla de soja no tienen ningún efecto retardante sobre el crecimiento. Los concentrados de saponinas pierden gran parte de su actividad por calor.

La saponina de la soja no se absorbe en el intestino, donde es escindido por las bacterias en azúcar y genina.

La colinesterasa y la quimotripsina se inhiben inespecíficamente, pero este efecto inhibidor es impedido por una proteína que se encuentra en la semilla de soja y la acción hemolítica es inhibida por la seroalbumina; por lo tanto las saponinas de la soja son inofensivas.

b_5) Flatulencia.

Hay muchas causas para la formación de gas gastointestinal. En los seres humanos el "flato" producido por fermentación de hidratos de carbono de la dieta en el intestino está compuesto por CO_2, H_2 y CH_4.

En los productos de soja el factor productor de gas reside principalmente en la fracción de hidratos de carbono de bajo peso molecular. Estas fracciones contienen un 60-80% de oligosacáridos como rafinosa, staquiosa y sacarosa. Prácticamente no hay actividad de flatulencia en la cáscara, grasa o proteína.

Se han desarrollado procesos enzimáticos que hidrolizan los oligosacáridos de la soja. Concentrados y aislados proteicos de soja están libres de

actividad flatulenta pero su uso incrementaría el costo de los alimentos[26,27,28,29,30].

5.- Usos de la Soja

La soja ha sido utilizada como alimento en Oriente por siglos. En últimos 40 años ha sido una importante fuente de proteínas en alimentos para aves de corral y ganado. En la actualidad está siendo usada en alimentos en cantidades crecientes para proveer proteínas de alta calidad y bajo costo con importantes propiedades funcionales. Por ejemplo en Japón, alrededor del 12-13% de la proteína de la dieta proviene de productos de soja. La soja será vital para abastecer las necesidades proteicas del futuro en todas partes del mundo, especialmente en los países en desarrollo[31].

Los productos mayores de la soja son la harina y el aceite que son separados por extracción de la grasa por un solvente orgánico, usualmente hexano.

La harina puede ser usada sin un tratamiento muy amplio como ingrediente en gran variedad de alimentos. Además puede servir como nuevo material para alimentos tratados especialmente.

Por mezcla con aceite o lecitina, dos ingredientes más funcionales pueden ser provistos para panadería llamados harina regrasada y harina lecitinada, usados para control de las propiedades de adsorción y emulsificación.

Generalmente ácidos, calentamiento y alcohol se usan para obtener proteína. El efluente conteniendo los hidratos de carbono más solubles, proteínas solubles, nitrógeno no proteico, los factores antinutricionales, algunos minerales y vitaminas, puede ser calentado, para eliminar los factores anti-

nutricionales y secado. El polvo remanente puede ser usado para alimento de ganado.

Los aislados son usados como ingredientes funcionales o nutritivos.

La harina puede ser texturizada y ese producto usarse en productos cárnicos[32].

Actualmente la harina de soja es ampliamente usada en la industria panadera. Durante mucho tiempo en los EE.UU, a la mayoría del pan blanco se le agregaba sólidos no grasos de leche que producían un "flavor" deseable y estabilidad durante el almacenaje.

Los sólidos no grasos de leche eran usados para a) incrementar la adsorción de agua b) proveer lactosa que daba la reacción de "browning" durante el horneado c) obtener pan blando d) dar cuerpo y elasticidad e) servir como buffer f) aumentar el valor nutritivo.

Actualmente el principal uso de la soja en la industria panadera es reemplazar a los sólidos no grasos de leche. La industria de la soja provee una cantidad de productos a la industria panadera: harina de soja tostada, harina de soja químicamente tratada, harina de soja con lecitina, harina de soja con toda la grasa y concentrados y aislados proteicos.

La harina de soja suministra funcionalidad, una mejor adsorción de agua, un mejor efecto de ablandamiento, mejores cuerpo y elasticidad que los sólidos no grasos de leche.

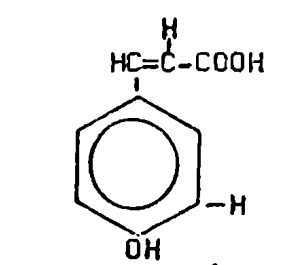
Generalmente, la relación de eficiencia proteica (REP) del pan blanco sin fortificar es de 0,7 (relativo al valor de 2,5 para caseína). Se ha encontrado que el pan conteniendo 3% de sólidos no grasos de leche tiene una REP de 0,75 y con 3% de harina de soja una REP de 0,83.

En la actualidad en los EE.UU la harina para la elaboración del pan blanco contiene entre 1,5 y 2,0 libras de harina de soja por cada 100 libras de harina de trigo.

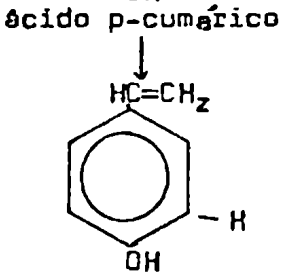
Estudios sensoriales efectuados sobre formulaciones de harina de trigo, 1 á 2% de harina de soja y 0,75 á 2% de leche en la obtención de panes, permitieron detectar "off-flavors" atribuídos a la soja. Esta es una de las más desagradables características de la harina desgrasada que se desarrollan durante el calentamiento, a partir de precursores naturales presentes en la soja .

Los dos principales componentes del "off-flavor" son el 4-vinil fenol y el 4-vinil guayacol.

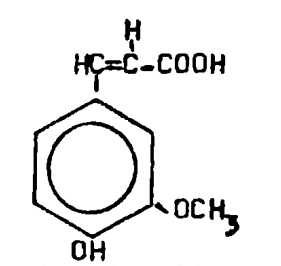
Se encontró que los ácidos cinámicos son los precursores que se descarboxilan durante la cocción.



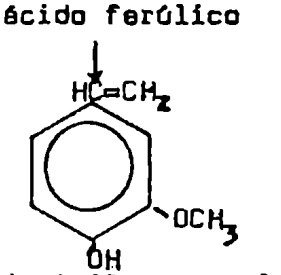
ácido p-cumárico



4-vinil fenol



ácido ferúlico



4-vinil guayacol

Ambos precursores pueden ser extraídos con solventes polares. El agregado de pequeñas cantidades de ésteres de sacarosa o monoglicéridos etoxilados a formulaciones a base de harinas de trigo y soja permitían la adición de esta última hasta valores que mejoraban el valor nutritivo del producto sin alterar la aceptabilidad del mismo. El pan resultante tenía un volumen normal, miga y "flavor" semejantes al pan normal.

Se estima que la cantidad de harina desgrasada de soja usada por la industria panadera de los EE.UU es de 50 millones de libras y unos 14 millones usados en galletitas y tortas.

En tortas la harina de soja también está siendo usada como reemplazante de los sólidos no grasos de leche. Experimentalmente se ha notado que mejora notablemente la textura.

Los productos panaderos fabricados con soja parecen ser los mejores vehículos para mejorar las dietas en muchas partes del mundo[33,34,35,36].

Los productos lácteos en forma de leche fluída o quesos son usados en todo el mundo, sin embargo los sólidos no grasos de la leche y el suero de quesería no han sido aprovechados suficientemente como ingredientes en la formulación de alimentos.

Si se recupera por secado el suero proveniente de la fabricación de quesos, tendríamos una fuente excelente de proteínas, que en combinación con productos proteicos vegetales ayudarían a resolver problemas nutricionales y contribuir al abastecimiento de alimentos. La soja ofrece una económica fuente de gran cantidad de proteinas de alta calidad nutricional.

La harina de soja desgrasada, la harina con toda la grasa, los concentrados y aislados proteicos de soja son usados en mezclas conteniendo cantidades variables de suero de quesería, caseinato de sodio, y sólidos no grasos de leche. Estos productos deben ser producidos por mezcla en seco de los ingredientes o mezcla humedecida en concentraciones adecuadas seguido de secado por "spray". Generalmente los productos mezclados en seco son de menos costo pero en muchas aplicaciones no tienen las mismas características funcio-

nales o "flavor" como los que fueron mezclados con agua y secados por spray[37].

Uno de los primeros usos de la soja fue en alimentos formulados para niños que eran alérgicos a los productos lácteos. Con tecnología nueva en el procesamiento de la soja y el desarrollo de aislados proteicos solubles, actualmente están disponibles leches de soja aceptables y de alto valor nutritivo.

Por su capacidad de hidratación y de emulsificación de grasas se ha incrementado el uso de la proteína de soja en los productos lácteos simulados. El estímulo para el desarrollo de margarina libre de leche, cremas agrias y quesos derivó de grupos religiosos que buscaban acatar sus leyes alimenticias. Luego la necesidad de una proteína más económica que la leche llegó a ser evidente. La soja provee lo económico sin disminución de la calidad nutricional de los productos.

En la margarina la harina de soja reemplaza a los sólidos no grasos de leche a veces sola o en combinaciones soja-suero[36].

Las proteínas de soja están consideradas como un agregado natural a carnes procesadas. Eso se debe a: 1) las proteínas de soja son funcionales y tienen gran afinidad por los jugos cárnicos, lo que no solo ayuda a reducir las pérdidas por cocción sino que además el producto es más jugoso y conserva todo su sabor, 2) las proteínas de soja son económicas.

La harina de soja finamente molida ha sido usada en salchichas y otros productos cárneos por muchos años. Fue propósito primitivo utilizarla como "extendedor" de carne, por ser un producto barato y rico en proteína de alto valor nutritivo.

La principal desventaja ha sido su sabor y sensación bucal, factores

que tienden a limitar su uso.

La harina de soja tostada es preferible en los productos cárneos; la harina sin tostar posee lipoxidasas, ureasa y actividad de inhibidor de tripsina que pueden causar problemas en el sistema emulsión.

Las harinas con lecitina o con toda la grasa no han mostrado ofrecer ninguna ventaja en este tipo de producto.

Las sémolas de soja son idénticas en composición a la harina, pero se diferencian en el tamaño de las partículas. Tienen gran utilidad en productos tipo "hamburguesa"[38].

Los análogos de la carne son proteinas texturizadas producidas a partir de harina, concentrados y aislados proteicos de soja. Estos materiales texturizados pueden ser producidos por tecnología de hilado, extrusión termoplástica, laminación térmica y texturización por vapor. Las técnicas más utilizadas son la extrusión termoplástica y la texturización por vapor. Las propiedades físicas de los materiales texturizados pueden ser modificadas por la manipulación de las condiciones del proceso.

Los análogos de carne responden a fórmulas que proveen "flavor", textura, color,similares a los de la carne. Se incorporan otros materiales que contribuyen a la apariencia de carne y que actúan como ligantes.

Generalmente son producidos por extrusión. La relativa proporción de ingredientes en un producto análogo de carne sería: 17% de harina de soja, 20% de aceite de soja hidrogenado, 3% de albúmina de huevo como ligante, 55% de agua y 5% de "flavor", minerales, color y vitaminas. Si la soja es deficiente en uno o más de los nutrientes presentes en la carne, durante el proceso de fabricación del análogo se tiene la oportunidad de agregar esos nu-

trientes y desarrollar así perfiles nutricionales satisfactorios[39,40].

Recientemente la proteína de soja texturizada ha sido utilizada en la elaboración de alimentos marinos. Las proteínas de soja se incorporan extensamente a pastas y salsas de pescado.

Los principales derivados de soja usados en los productos de pescado son los concentrados y aislados. Se utilizan como polvo, como pasta mezclándolos con agua o como pasta emulsificada preparada mezclando el producto de soja con agua y aceite. La textura del producto final es blanda, color blanco opaco, dependiendo de la cantidad de soja agregada y del método de adición[41].

Los alimentos fermentados son componentes importantes de la dieta en muchas partes del mundo, especialmente el Sudeste de Asia, China y Japón.

Los alimentos fermentados más representativos en China y Japón son: las salsas de soja, la pasta de soja fermentada, el queso de soja y los porotos enteros de soja fermentados.

El predecesor de la salsa de soja, llamado "shoyu" en Japón y "chiengyu" en China y de la pasta de soja fermentada, miso en Japón y chiang en China, es el "chiang" originado en China hace aproximadamente 2500 años.

Este "chiang" que fue llamado "hishio" en Japón, ha sido transformado a través de los siglos en dos únicos alimentos; "shoyu y miso" que son diferentes de los productos chinos.

Hay en Japón 5 tipos de salsa fermentada de soja. La "kockuchishoyu" representa la mayor producción de salsa de soja. Es un sazonador y está caracterizada por su fuerte aroma,"flavor" e intenso color rojo amarronado.

El segundo tipo es "usukushi-shoyu" caracterizada por su color marrón

brillante y su "flavor" suave. Principalmente es usada cuando se desea preservar el gusto y color originales del alimento. Los otros tres tipos de salsa de soja son producidos y consumidos en localidades aisladas.

Las pastas de soja fermentadas son productos de fermentación de soja y cereales en presencia de sales.

La pasta de soja fermentada se denomina "miso". Es un alimento semisólido cuya composición general sería la siguiente: 47% de agua, 19% de proteína, 2% de hidratos de carbono, 10% de grasa y 10% de cloruro de sodio.

El miso puede ser clasificado en tres tipos principales sobre la base de sus materiales crudos, o sea: "miso de arroz", "miso de cebada" y "miso de soja". El miso de arroz está hecho con arroz, soja y sal; el miso de cebada con cebada, soja y sal y el miso de soja con soja y sal.

Otro producto importante es el "sufu", queso blando de soja fabricado a partir de cuajada de leche de soja por acción de microorganismos. El procesado del "sufu" consiste en tres etapas: a) preparación de la cuajada de leche de soja, b) agregado de las cepas, c) salado.

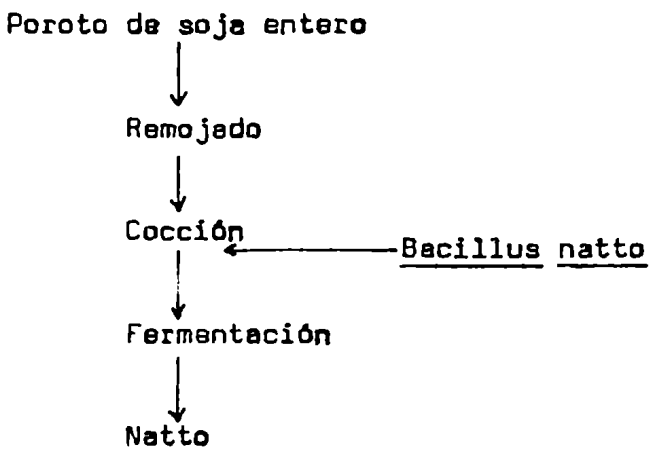
El primer paso, o sea la fabricación de la cuajada es escensialmente el mismo proceso para fabricar "tofu", cuajada obtenida por precipitación de la leche de soja con sales de calcio, producto blanco, blando que contiene 88% de agua, 6% de proteína y 3% de lípidos.

Antes del segundo proceso se pasteuriza el "tofu" y luego se inocula principalmente con Mucor o Actinomucor aunque suelen usarse algunos Rhizopus. La fementación dura 7 días a 12º para el género Rhizopus y 3 días a 24º para el género Mucor.

El último proceso consiste en el salado y mezclado obteniéndose un pro-

ducto cremoso.

Otro alimento tradicional del Japón originado hace 2000 años es el "natto". Su preparación es muy sencilla:



El "natto" es el único producto fermentado por el Bacillus natto, la superficie de los porotos está cubierta por una sustancia muy viscosa que consiste en polímeros de ácido glutámico producidos por el Bacillus natto.

El "natto" es sabroso y no tiene mucho olor. Generalmente es servido con salsa de soja y mostaza.

En Indonesia se desarrolló un alimento fermentado denominado "tempeh", en el que el poroto de soja es remojado, descascarado, parcialmente cocido e inoculado con Rhizopus.

Contiene un 40% de proteína sobre base seca. Debido a su alto valor nutritivo el "tempeh" puede ser un buen sustituto de la carne en la dieta. [42,43,44]

- II -

- DISCUSION DE LA PARTE EXPERIMENTAL -

Harinas de extracción (hexano) de semilla de 49 variedades de soja (Marcos Juárez, Córdoba).

1.- Determinación de valores de Composición General.

2.- Contenido en Fósforo total, Fósforo de ácido fítico y Lisina disponible.

3.- Algunos factores antinutricionales.

4.- Estudio sobre lípidos en harinas integrales de soja.

a) Aislamiento y evaluación

b) Resolución en ácidos e insaponificable

c) Fósforo lipídico y contenidos en fosfolípidos

d) Composiciones acídicas

e) Fracción de esteroles del insaponificable

f) Fraccionamiento en capa delgada de lípidos aislados por mezcla ternaria $Cl_3CH:CH_3OH:H_2O$

g) Presencia de lípidos aldehidogénicos

5.- Lípidos retenidos.

Cascarilla industrial de poroto de soja

1.- Composición química general, otros componentes y valores de actividades ureásica y antitriptica.

2.- Sobre el contenido lipídico.

Harinas de extracción (hexano) de semilla de 49 variedades de soja (Marcos Juárez, Córdoba).

La finalidad de este trabajo ha sido el estudio exhaustivo de composición química de las harinas de extracción (hexano técnico) de semilla de 49 variedades de soja de producción nacional (Estación Experimental "Marcos Juárez", Pcia. de Córdoba, INTA) correspondientes a cuatro ciclos. En los Estados Unidos el número de variedades que se han ensayado es muy grande (más de 10.000). Se ha trabajado intensamente en el desarrollo de variedades mejoradas por cruza y selección. Una de las razones que justifican un gran número de variedades es que responden a diferentes tiempos de maduración y que una dada variedad puede producir el mejor rendimiento en un estrecho margen de latitud de cerca de 50 millas. A este respecto es interesante el hecho que la soja depende principalmente del tiempo durente el cual la planta permanece en la oscuridad cada 24 horas para florecer. Cada variedad tiene su período de oscuridad mínimo que le induce a florecer. Este período es más corto para las variedades tempranas aconsejadas en los EE.UU. para las latitudes del norte que para las tardías apropiadas para las latitudes del sur. Como resultado las variedades que crecen en el sur de su propio rango tienden a florecer muy pronto y bastante antes de que el vegetal alcance su desarrollo vegetativo, por lo cual produce bajos rendimientos; en cambio, las variedades que crecen al norte de su propio rango florecen más tarde y puede ocurrir que no se obtenga una cosecha madura. En ese país la planta de soja tiene el mismo requerimiento de clima y suelo que el maíz, pero el tiempo necesario para lograr una cosecha madura oscila desde 75 días para las variedades muy tempranas á 200 días para las muy tardías[12].

En la Argentina los "ciclos" se rigen por el número de días desde el nacimiento de la planta a la aparición de las primeras flores y a la caída de las hojas. Este último valor está muy relacionado con el fin del ciclo vegetativo, considerándose que 8 á 15 días después de esa fecha el cultivo está en condiciones de ser cosechado.

El ciclo depende del cultivar; las condiciones regionales de fotoperíodo, temperatura y humedad, influyen en la duración del período vegetativo total y los subperíodos que lo integran, es decir de nacimiento a floración y de floración a maduración.

Las características varietales de los cultivares responden a 4 ciclos a saber:

Soja de Producción Nacional-Ciclos evolutivos.[3]

Cultivares (ciclos)	Días I	Días II
Precoces (corto)	25-34	80-109
Semiprecoces (corto e intermedio)	35-59	110-144
Semitardías (intermedio)	60-79	145-164
Tardías (intermedio a largo)	80-115	165-185

I- Nacimiento a floración

II- Nacimiento a caída de las hojas

En este trabajo las variedades consideradas fueron las siguientes:

Ciclo corto: Bellati 4P, Wayne, SRF 307, Beeson, Williams.

Ciclo corto a intermedio: Kent, Cutler 71, Re 450, Bellati 263, Clark 63.

Ciclo intermedio: Davis, Semmes, Prata 94 (17), Prata 292 (17), Ogden, Hill, Dorman, Essex, Pereira Barreto, Mid 10-100, Forrest 12 0, Forrest 52, Dare, Crest, Halesoy 321, Hampton, Paraguaya, Mensoy 8, Picket 71, Tracy, Ford, Cajeme, Bacatete, Mac Neir 600, Yellow, Jackson, Wabash, IAS 5, Lee, Paraná, Cerrillos, Mack, Hood.

Ciclo intermedio a largo: Biemville, Ramson, Cobb, Stuart, Mineira.

Correspondieron a partidas de semilla madura de la cosecha 1976/1977 (Marcos Juárez), que fueron previamente estudiadas en sus características, rendimientos en aceite por extracción con hexano técnico y características físico-químicas, componentes menores, composiciones acídicas, etc. de estos últimos[45]. Las harinas recientemente obtenidas se desolvetizaron (exposición al aire y calentamiento a 40º en vacío), se remolieron y preservaron en envases herméticos a temperatura normal durante su estudio. A continuación se hace una exposición de los resultados obtenidos.

1.- Determinación de valores de Composición General.

Se entiende por tal la evaluación de los contenidos de humedad (100º vacío), Cenizas (500-550º), Nitrógeno (Kjeldahl), Fibra cruda (AOAC), Hidratos de carbono (suma de reductores, invertibles y sacarificables), y lípidos presentes.

En la Tabla 2 figuran las cifras correspondientes expresadas para cenizas, proteínas, fibra, hidratos de carbono y lípidos en base seca.

Los valores de contenido acuoso oscilaron entre 7,58 y 15,96% con una mayor concentración de valores entre 8 y 11%, cifras ligeramente superiores al valor fijado en el Código Alimentario Argentino (9%)[46]. Las diferencias observadas obedecen a distintos grados de deshidratación durante el calentamiento a 40º en vacío en el proceso de desolvetización.

Los contenidos en cenizas tuvieron un mínimo de 5,53 y un máximo de 9,90% con mayor concentración de valores entre 7,40 y 8,50% siendo el valor promedio 7,27%. Esta cifra es coincidente con la señalada en el Código Alimentario Argentino (6,5% sobre harina tal cual; 7,14% en base seca)[46].

Los valores de proteína cruda(N x 6,25) oscilaron entre 47,38 y 55,31%, con un valor medio de 51,44% cifra ligeramente inferior al mínimo indicado en el Código Alimentario Argentino (50% sobre harina tal cual; 55% sobre base seca)[46].

Las evaluaciones de fibra cruda mostraron un mínimo de 5,87 y un máximo de 6,84%, con un valor medio de 6,32%. Este último valor duplica prácticamente al señalado en el Código mencionado (3,5% sobre harina tal cual; 3,8% sobre base seca), pero debe tenerse presente que se trata de harinas no decorticadas.

La evaluación de lípidos constó de dos partes: primero extracción de lípidos fundamentalmente polares (por extracción con mezcla ternaria Cl_3CH: CH_3OH:H_2O) y la determinación de aquellos lípidos que resisten las extracciones por hexano y con la mezcla ternaria mencionada.

Estos últimos se determinaron sobre la harina así agotada por reflujo con solución alcohólica de KOH (ver Parte Experimental), bajo la forma de una mezcla de ácidos grasos e insaponificable. En la Tabla 2 figuran los valores de los lípidos totales de 10 harinas que resultaron oscilar entre prácticamente 2 y 3% en base seca, con un valor medio de 2,51%.

Las cifras logradas en las evaluaciones de hidratos de carbono totales (ajenos a fibra cruda y constituídos por azúcares reductores, invertibles y sacarificables) oscilaron entre 18,49 y 24,36% con un valor promedio de 21,72%.

Si bien es sabido que estos hidratos de carbono en el poroto de soja están constituídos por trazas de glucosa y levulosa, siendo los constituyentes mayores sacarosa, staquiosa y rafinosa, operando sobre dos variedades (Hill y Biemville) y sobre cromatografía en papel (ver Parte Experimental) quedó revelada la presencia de glucosa, fructuosa, galactosa, sacarosa, rafinosa y un componente no identificado (presumiblemente staquiosa, del que no se disponía patrón). Se los evaluó por determinación de azúcares reductores, invertibles e hidratos de carbono sacarificables. La Tabla 3 reune los valores encontrados para 10 harinas consideradas, expresando los resultados (base seca) en glucosa, sacarosa y almidón respectivamente.

De su observación surge que los principales componentes fueron los hidratos de carbono sacarificables siendo los azúcares reductores los que figuraron con menor concentración y los invertibles con niveles intermedios. La Tabla 3 hace mención de los valores máximos y mínimos observados, mostrando cifras promedio de 0,35% para reductores, 7,06% para invertibles y 14,31% para sacarificables. Los contenidos totales en estos hidratos de carbono fueron mencionados en la Tabla 2.

El examen de los datos logrados en la evaluación de Nitrógeno total (o proteína) y de la sumatoria de los hidratos de carbono reductores, invertibles y sacarificables, llevó a considerar la probable relación entre ambas variables. Al representar 10 pares de valores se observó que mostraban una relación negativa y lineal. Por tratarse de un pequeño número de muestras se señala la conveniencia de establecer esa correlación con un mayor número de muestras a los fines de su confirmación.

2.- Contenido en Fósforo total, Calcio, Fósforo de ácido fítico y Lisina disponible.

Según las técnicas que figuran en la Parte Experimental se determinaron las concentraciones de estos componentes con los resultados que figuran en la Tabla 4. Las cifras halladas para fósforo total y para fósforo de ácido fítico fueron poco variables como puede apreciarse, habiendo observado que el fósforo de ácido fítico representó entre el 20,0 y el 27,4% del fósforo total.

En un estudio realizado sobre 15 variedades de poroto de soja[47] se encontró que el fósforo de ácido fítico equivalía a valores entre 51,4 y 57,1% del fósforo total. Las diferencias observadas pueden deberse a los distintos métodos de valoración de fósforo de ácido fítico o a la disponibilidad de fósforo en los suelos.

Las concentraciones de calcio oscilaron entre 273 y 409 mg/100g en base seca, observando un valor medio de 338. Las relaciones Ca/P oscilaron entre 0,35 y 0,52 es decir que por cada gramo de fósforo se observa entre 0,35 y 0,52 gramos de calcio, relación que está alejada de la relación 1,2:1 debido al excesivo tenor de fósforo total registrado.

Se han obtenido distintos valores para la relación Ca/P[11,13,16] que oscilan entre 0,32 y 0,42.

Se ha señalado[48] que si la dieta de un individuo es pobre en calcio y rica en cereales, al cabo de un breve tiempo, generalmente unas semanas, el organismo se adapta y puede digerir el fitato cálcico y absorber y utilizar el calcio alcanzándose un estado de equilibrio con la baja ingesta de calcio. Cuando gran parte de la dieta humana consiste de productos vegetales, contiene siempre más fósforo que calcio. Se tienen pruebas concluyentes[49], obteni-

das con seres humanos, de que una cantidad bastante grande de fosfato en la dieta, casi no influye en la absorción del calcio.

Los tenores encontrados para lisina disponible (Ver Parte Experimental), expresados en g de lisina /16g de nitrógeno, oscilaron entre 5,53 y 6,61 con una mayor concentración de valores entre 5,9 y 6,5. El valor medio fue de 6,17.

Estas cifras marcan un ámbito de 2,40 á 3,01 para lisina % en base seca, con un valor medio de 2,80.

De 19 variedades sometidas a evaluación de lisina disponible prácticamente 14 contienen más de 6,0g de lisisna /16g de nitrógeno destacando que los valores más bajos correspondieron a la variedad Dare (5,53) y Cajeme (5,67) y la variedad Ranson con el tenor más elevado.

Todas estas cifras son muy acordes con las registradas en literature ya mencionadas en la Introducción. Probablemente estos contenidos sean para cada variedad ligeramente superiores en harinas integrales, debido a la presencia de un 8% de cáscara cuyo tenor en lisina disponible es superior al de la harina decorticada[22].

El Código Alimentario Argentino[46] en su artículo 1407 fija un valor mínimo para lisina disponible de 5g /16g de nitrógeno en harinas decorticadas y tostadas, cifra evidentemente menor a los valores registrados en este trabajo.

3.- Algunos factores antinutricionales.

Teniendo en cuenta la actividad antitríptica del poroto de soja y sus derivados se procedió a su evaluación en 14 harinas integrales procedentes de los cuatro ciclos de evolución de las muestras consideradas. Se utilizó

el método que emplea sustrato sintético BAPA (benzoil-DL-arginina p-nitroanilida)[50] previo ajuste del mismo[51] que consistió en establecer que el tiempo de contacto entre enzima, sustrato e inhibidor (muestra) es de mucha importancia a fin de obtener valores reproducibles. En este ajuste se logró constancia de resultados para niveles de inhibición de 20 á 60%, con desviaciones entre 3 y 4% para el mismo analista obtenidos con extracto de muestras y con reactivos preparados en distintas oportunidades.

Paralelamente a las determinaciones de actividad antitríptica se determinaron los valores de actividad ureásica obteniendo para estos últimos, en las mismas muestras, valores prácticamente constantes (mínimo 1,97; máximo 2,11).

Los de actividad antitríptica mostraron gran variabilidad (mínimo 84,0; máximo 216,8 Unidades de tripsina inhibidas (UTI)/mg de proteína, equivalentes a 37,5 y 100,4 respectivamente expresados en esas unidades por mg de harina).

Harinas de soja desgrasada sin tratamiento por calor procedentes de distintas zonas de los EE.UU fueron analizadas en su actividad antitríptica[52] obteniendo valores que oscilaron entre 87,6 y 94,8 UTI/mg de harina mientras que en las mismas muestras tostadas descendió la actividad a valores entre 4,3 y 6,3 UTI/mg de harina.

En un estudio en colaboración[53] se señalan valores de actividad de inhibidor de tripsina para muestras de harinas no tratadas por calor oscilando estos entre 83,7 y 96,0 UTI/mg de harina para distintas variedades.

En nuestro país se han realizado evaluaciones de actividad antitríptica en 30 variedades[54] pertenecientes también a los cuatro ciclos evolutivos y provenientes del campo experimental de la Facultad de Agronomía, en la Pro-

vincia de Buenos Aires, pero utilizando caseína 2% como sustrato. Los valores extremos obtenidos en ese estudio fueron 72,7 y 210,0 UTI/mg de proteína coincidiendo, dentro de las diferencias posibles al cambiar de sustrato, con los valores de nuestro estudio que figuran en la Tabla 5.

El Código Alimentario Argentino[46] en su artículo 1407 no fija valores para actividad antitríptica; en cambio establece un máximo de actividad ureásica de 0,30 para harinas tostadas de poroto descascarillado.

4.- Estudios sobre lípidos en harinas integrales de soja.

a) Aislamiento y Evaluación.

Las harinas integrales de poroto de soja motivo de este estudio fueron obtenidas, previa molienda, por agotamiento por hexano técnico (Soxhlet). Consecuentemente se las ha liberado de la mayor parte de los lípidos no polares (lípidos neutros) de la semilla, pudiendo retener principalmente lípidos polares, dificilmente extraíbles por hexano.

En consecuencia se trataron 12 muestras de las harinas (pertenecientes a los 4 ciclos contemplando variedades con valores bajos y elevados de fósforo lipídico de los aceites crudos de extracción[45] dentro de cada ciclo) con un solvente monofásico (tipo Folch) constituído por Cl_3CH:CH_3OH:H_2O (ver Parte Experimental)[55]. De los extractos obtenidos en cada caso y por dilución acuosa se obtuvieron soluciones en Cl_3CH de los lípidos de las harinas que fueron recuperados por destilación y calentamiento final a 100º y 5 Torr (estufa de vacío). En la Tabla 6 figuran los rendimientos en lípidos así aislados para las 12 variedades, que oscilan entre 1,66 y 2,68% de harina en base seca, con una concentración mayor de valores alrededor de 2,0 á 2,3%.

La literatura[56,16] indica valores de "grasa" en harinas desgrasada de poroto de soja entre 0,5 y 3,5% sin indicar los métodos de determinación.

b) Resolución en ácidos e insaponificable.

Los 12 productos lipídicos separados en este estudio se saponificaron con potasa alcohólica y resolvieron en insaponificable y ácidos totales en forma cuantitativa.

En le Tabla 6 figuran los valores porcentuales de estos componentes expresados % de lípidos totales y % de harina de partida, en base seca. Deben destacarse los elevados contenidos en insaponificable (16,7-34,7% de lípidos). Consecuentemente fueron bajos los tenores en ácidos totales de estos lípidos (20,6-54,0% de lípidos, con mayor concentración de valores entre 30 y 40%).

c) Fósforo lipídico y contenidos en fosfolípidos.

La consideración de las cifras anteriores hizo pensar que los principales componentes de estos lípidos serían del tipo polar, lo que se vió confirmado al evaluar los contenidos en fósforo lipídico que oscilaron entre 1,45 y 2,63% de lípidos, con mayor concentración de valores entre 2,0 y 2,4%.

Estos contenidos permitieron un cálculo bastante aproximado de los de fosfolípidos de tales lípidos, empleando el factor de transformación para fosfolípidos de soja de 31,7[57], obteniendo las cifras que figuran en la Tabla 6 y que oscilaron entre 46,0 y 91,0% de lípidos. Esta Tabla también contiene los valores de índice de yodo (Rosenmund) de los insaponificables de estos lípidos, muy poco variable entre 68,0 y 94,1 con mayor concentración entre 70,0 y 85,0.

Teniendo en cuenta los contenidos en aceite crudo de extracción de

las 12 muestras anteriores, sus respectivos tenores en fósforo lipídico y los de fósforo lipídico % de harina seca, fue posible calcular los contenidos totales de fósforo lipídico y por lo tanto de fosfolípidos (factor 31,7)[57] en poroto entero seco, computando como rendimiento en harina seca las diferencias entre 100 y los contenidos de aceite % de poroto seco en cada caso. La Tabla 7 informa los resultados obtenidos: los contenidos en fosfolípidos % de poroto entero y seco oscilaron entre 1,33 y 2,05% con mayor concentración de valores entre 1,40 y 1,71%. Una parte de estos componentes se extrae con hexano (si bien este solvente es no polar, el proceso de extracción dura más de 48 horas) con valores entre 0,32 y 0,51g en el aceite extraído de 100 g de poroto entero seco, mientras que la fracción de fosfolípidos remanentes en la harina de 100g de poroto entero seco oscila entre 1,01 y 1,58g (entre el 71,4 y el 79,2% de los fosfolípidos totales del poroto quedan remanentes en las harinas de extracción).

Se ha señalado[58] que para semilla entera de soja el contenido en fosfolípidos abarcaría un rango entre 1,0 y 3,2% con un valor promedio estimado en 1,8%. Estos datos practicamente coinciden con los que se pueden observar en la Tabla 7 y que fueron discutidos en el párrafo precedente.

d) Composiciones acídicas.

Los ácidos totales separados por saponificación de las 12 muestras mencionadas se esterificaron con CH_3OH (ver Parte Experimental) y estudiaron en sus composiciones acídicas por cromatografía de partición gas-líquido(CGL).

La Tabla 8 resume los valores encontrados expresados en ácidos % de ácidos totales.

La comparación de los datos de la Tabla 8 respecto de los valores de composición acídica de los aceites crudos de extracción[45] señala notables diferencias. Así, los aceites crudos de semilla de estas variedades contenían entre 10,3 y 12,4% de 16:0 frente a 24,4 y 32,5% para lípidos extraídos por mezcla ternaria; para 18:0 las cifras en los aceites crudos oscilaron entre 1,4 y 5,1% con mayor concentración de valores entre 2,5 y 3,3% mientras que en los lípidos extraídos por mezcla ternaria oscilaron entre 3,1 y 5,1% con mayor densidad de valores entre 4,0 y 5,0% de ácidos totales.

Una diferencia significativa se observó, al igual que para 16:0, en los contenidos de 18:1 pero en sentido inverso: en los aceites crudos los valores oscilaron entre 19,6 y 34,3% mientras que en los obtenidos por extracción con la mezcla mencionada lo fueron entre 9,4 y 17,8%. Los contenidos para 18:2 no mostraron significativas diferencias mientras que sí se observó una ligera tendencia a mayores valores para 18:3 en los ácidos totales separados de los lípidos extraídos de las harinas por la mezcla Cl_3CH:CH_3OH:H_2O.

Como consecuencia del incremento notable en 16:0 y significativa disminución en 18:1, para contenidos poco variables en 18:2 y 18:3, los valores de índice de yodo de los ácidos totales de los aceites crudos resultaron significativamente mayores que los observados para los de los lípidos procedentes de las harinas: 120,6-135,8 frente a 102,0-119,5 (en embos casos calculados sobre los valores de composiciones acídicas por CGL). Es de destacar que los lípidos aislados por mezcla ternaria de las harinas han mantenido para 18:2 y 18:3 los tenores observados en los respectivos aceites crudos (los ácidos más insaturados).

Los cromatogramas de estos lípidos permitieron observar como componentes menores a numerosos otros componentes (12:0, 13:0, 14:0, r-14:0, 14:1, 15:0, r-16:0, 17:0 y 17:1) y observar con claridad la presencia de 16:1 (hexadecenoico) difícilmente revelable por CGL en estudios de composición acídica de ácidos totales de aceites crudos (ver Figura 1 correspondiente al cromatograma de la variedad Tracy).

e) Fracción de esteroles del Insaponificable.

Operando sobre una mezcla de los insaponificables de lípidos extraídos por mezcla ternaria de las 12 harinas consideradas (ver Parte Experimental) se dispuso de 0,1177g de ese insaponificable que se utilizó para evaluar en él el contenido total en esteroles (digitonina)[59] obteniendo un valor de 161 mg de esteroles totales/100g de lípidos. Esta cifra es sensiblemente inferior a la registrada para los aceites crudos de las 12 variedades consideradas[45] (387-507 mg/100g).

Una alícuota de la misma mezcla de los 12 insaponificables se fraccionó por Cromatografía en Placa Delgada de Silicagel G[60] recuperando la fracción de esteroles que se examinó por CGL observando los mismos componentes que en los aceites crudos, con los siguientes valores de composición (% de esteroles totales): Colesterol (0,5), Campesterol (10,5), Stigmasterol (12,6) y Sitosterol (76,4). En la Figura 2 se puede observar el cromatograma correspondiente.

Si bien se trata de una mezcla de esteroles aislados de los insaponificables de 12 variedades, la composición encontrada difiere significativamente de las observadas para los esteroles de las 12 variedades en los acei-

tes crudos[45]: Colesterol (0,2-0,5): Campesterol (18,3-24,0); Stigmasterol (13,4-27,1) y Sitosterol (48,5-72,0 con mayor densidad de valores para este último entre 53-58% de esteroles totales). Las mayores variaciones han correspondido en ambos tipos de fuentes a Campesterol (disminución) y a Sitosterol (sensible aumento).

Consecuentemente estas experiencias han permitido establecer que harinas de soja eficientemente agotadas por hexano retienen esteroles con la misma composición cualitativa que los aceites crudos pero en concentración sensiblemente menor y con significativas variaciones cuantitativas de composición.

f) Fraccionamiento en capa delgada de lípidos aislados por mezcla ternaria Cl_3CH:CH_3OH:H_2O.

Se llevó a cabo operando sobre lípidos de las variedades con menor y mayor contenidos en fósforo lipídico (valores extremos), correspondientes a las variedades Mineira y Beeson respectivamente. Se operó en escala analítica y preparativa en placa delgada de Sílica Gel G (ver Parte Experimental) utilizando algunos patrones (fosfatidilcolina, lecitina comercial de uso alimentario y aceite de girasol) habiendo identificado los lípidos separados mediante reactivos generales y específicos. De las experiencias en escala preparativa por elución (éter etílico) de los raspados respectivos se aislaron fracciones de lípidos neutros (LN), etanolaminafosfolípidos (EFL) y colinafosfolípidos (CFL), (en experiencias en escala analítica se tuvo la presunción de la probable presencia de lisofosfolípidos y glicolípidos). Al obtener resultados muy semejantes en escala analítica para ambas variedades se optó por operar en escala preparativa sobre solo una de ellas (var. Beeson).

Desde que en cada una de estas fracciones puede ocurrir la presencia de lípidos aldehidogénicos (fosforados ó no), los eluídos de LN, EFL, CFL se saponificaron extrayendo con éter de petróleo presuntos insaponificables y recuperando en cada caso los ácidos totales libres de insaponificable. Los insaponificables deben contener los alcoholes vinílicos unidos como eteróxidos a la glicerina liberada en los procesos de saponificación, que son estables en medio alcalino. Los ácidos totales libres de insaponificable de cada fracción se transformaron en ésteres metílicos y se examinaron por CGL. Los insaponificables se hirvieron a reflujo con metanol anhidro conteniendo ácido sulfúrico como catalizador, procesos que llevan a la obtención de dimetilacetales procedentes de aldehídos generados en base a los alcoholes vinílicos esterificados en los lípidos aldehidogénicos presuntamente existentes[61,62]. Estos dimetilacetales también se examinaron por CGL.

La Tabla 10 reune los valores de composición acídica de las fracciones LN, CFL, EFL (operando sobre esteres libres de dimetilacetales)(Figuras 3,4,5)

Los valores de la Tabla 10 muestran los mismos componentes de los de la Tabla 8 si bien son notorias las diferencias en concentraciones de los principales componentes (16:0, 18:0, 18:1, 18:2, 18:3). En las tres fracciones se registraron valores para 16:0 concordantes con los de la Tabla 8 ligeramente inferior para el caso de la variedad estudiada; cifra muy superior para 18:0 en EFL y en LN y del mismo orden para CFL. En cambio las concentraciones para 18:2 fueron significativamente inferiores a las de la Tabla 8 (mínimo para EFL con 10,4 y máximo para LN con 23,5% obteniendo un valor intermedio para CFL de 17,0). Para 18:3 los valores sufrieron una sensible disminución en EFL (0,4) y en CFL (1,2) siendo en cambio superior (6,0) para LN.

Consecuentemente los valores de índice de yodo de los ácidos totales de estas tres fracciones fueron muy inferiores a los de la Tabla 8.

Debe destacarse, además, que la composición acídica de LN difirió notoriamente de la del aceite crudo[45] de la variedad Beeson ya que en este último la concentración para 16:0 fue 11,3, para 18:0 4,1, para 18:1 24,1, para 18:2 54,9 y 5,6 para 18:3, de donde surgen las grandes diferencias de las concentraciones de 16:0 y 18:0 fundamentalmente.

Tanto en CFL como en EFL y LN los cromatogramas de las Figuras 3,4 y 5 muestran nítidamente la presencia de 16:1 (hexadecenoico), que había sido revelado[45] en un estudio exhaustivo de composición acídica combinando destilación fraccionada de esteres metílicos de ácidos totales con análisis CGL subsiguiente de fracciones y residuo de destilación. Como confirmación se presenta la Figura 6 con el cromatograma de CFL hidrogenados, en el cual se observa la desaparición de los picos atribuidos a 16:1 y 14:1, además de los insaturados habituales. (Estas observaciones se consideran de interés toda vez que en la literatura no se menciona un ácido hexadecenoico como componente normal de aceites de soja, en razón de no ser evidenciado en cromatogramas de ésteres metílicos de ácidos totales).

g) Presencia de lípidos aldehidogénicos.

Los materiales insaponificables separados con éter de petróleo después de saponificar las fracciones se mezclaron y luego de eliminar el solvente se reflujaron con CH_3OH anhidro conteniendo 1,5% de SO_4H_2 concentrado en peso. Luego de enfriar se virtió sobre un exceso de solución de CO_3K_2 (para evitar el efecto de descomposición de dimetilacetales en medio acuoso ácido) y extrajo los presuntos dimetilacetales con éter etílico. Un examen CGL

del residuo por destilación del solvente así obtenido mostró cerca de 20 picos, ver Figura 7, presuntivamente atribuibles a dimetilacetales en cantidades muy pequeñas. Como confirmación, sobre el resto se practicó la reacción con el reactivo Fucsina-SO_2 que, en medio ácido y en presencia de dimetilacetales, produce una coloración rojo-violácea[63,64].

5.- Lípidos retenidos

Se denominan lípidos retenidos a los productos lipídicos remanentes en la harina luego de una extracción exhaustiva con mezcla ternaria Cl_3CH: CH_3OH:H_2O.

La existencia de tales lípidos en distintos productos, tales como harinas y aislados proteicos ha sido demostrado en numerosas ocasiones. Esas mezclas de sustancias lipídicas se evalúan a través de un proceso de ebullición por reflujo con solución alcohólica de KOH al 6%, seguido de acidificación y extracción de la mezcla generada en ese proceso, constituída por ácidos grasos y material insaponificable[65].

Aplicada a la evaluación en 10 de las 12 harinas consideradas, ya agotadas por mezcla ternaria, se obtuvieron entre 0,04 y 0,27% de las mismas de ácidos grasos y 0,084 á 0,57% de insaponificable (valores extremos).

Todos los insaponificables obtenidos se reunieron y se determinó el valor de índice de yodo (Rosenmund) que resultó ser 85,3. En cambio las 10 mezclas de componentes acídicos se esterificaron por separado, examinaron por CGL con los resultados que figuran en la Tabla 11. Los resultados observados en estas últimas son variables entre sí (según la variedad) pero, en general, no difieren sensiblemente de los valores para lípidos extraídos por mezcla ter-

naria, lo que queda en cierto modo confirmado al observar las cifras calculadas para índice de yodo de ácidos totales en ambas fracciones lipídicas. La Figura 8 reproduce el cromatograma correspondiente a los ésteres metílicos de los ácidos totales de los lípidos retenidos provenientes de la harina de la variedad Tracy.

Operando sobre una alícuota de la mezcla de insaponificables de esta fracción de lípidos se realizó un fraccionamiento en placa delgada de Sílica Gel G no logrando evidenciar presencia de esteroles. No obstante, se procedió al raspado que correspondía a la zona de la placa donde se ubicarían los esteroles, se eluyó con éter etílico y corrió un cromatograma en las condiciones habituales para esteroles, sin observar pico alguno. Se concluye en consecuencia, ausencia de esteroles en la fracción de lípidos retenidos.

Cascarilla industrial de poroto de soja.

Aunque en forma gradual la tendencia actual de la industrialización del poroto de soja tiende hacia la obtención de harinas para consumo humano. Este objetivo requiere el descascarillado previo del poroto, seguido de los procesos de obtención de aceite por prensado y extracción con hexano o simplemente por extracción directa con este solvente.

Muchos de los análisis disponibles hasta hace unos 30 años sobre composición del poroto de soja se referían al poroto íntegral, sin separación previa de la cascarilla. Esta es una fina capa que constituye entre el 5 y el 10% del poroto y que es de un bajo tenor en grasa (menos de 1%), con cerca del 7% de proteínas[12]. El porcentaje de cascarilla es mayor en las variedades que producen poroto de menor tamaño.

Consecuentemente, en la medida que aumente la industrialización para producción de aceite y harina para consumo humano, aumentará la disponibilidad de cascarilla para la elaboración principalmente de alimentos balanceados para animales. En vista de ello se decidió el estudio de composición, según se expone a continuación, de una partida de cáscara industrial de poroto de soja procedente de Brasil (San Pablo).

1.- Composición química general, otros componentes y valores de actividades ureásica y antitríptica.

Utilizando técnicas ya mencionadas para el caso del estudio de las harinas integrales se presentan los valores encontrados para la cascarilla analizada, resumidos en la Tabla 13.

La cáscara, según informaciones recibidas fue obtenida en fábrica por secado parcial previo del grano a 60-80º hasta lograr un contenido acuoso entre 7 y 10%, estacionamiento, eliminación de cuerpos extraños, molienda con rodillos estriados (rotura parcial) y separación por aventamiento de la cascarilla.

Si bien se trata de cascarilla procedente de poroto de soja del Brasil, la comparación de los valores de las Tablas 2,4 y 13 señala contenidos acuosos similares para harina integral y cascarilla y cifras inferiores para el contenido en materias minerales (cenizas) de esta última (4, 5 frente a 5,5-9,9%).El contenido en proteína cruda (9,45%) resultó algo superior al único valor encontrado en literatura[12] (7%), destacando los elevados contenidos en fibra cruda (41,8%) y en hidratos de carbono sacarificables (24,8%). En cambio fue bajo al igual que en las harinas el contenido en azúcares reductores (0,4%) y muy inferior al de estas últimas el tenor en azúcares in-

vertibles (1,0 frente á 5,1-8,3%).

Resultó notorio el bajo tenor en fósforo total (0,026%) y así mismo el de fósforo de ácido fítico (menor de 0,005%); por el contrario el contenido en calcio fue manifiestamente superior al observado para las harinas integrales (598 frente á 273-409 mg%g).

Los lípidos totales fueron algo superiores al único valor registrado en literatura[12] (menor del 1%), pués en total se computó 1,61% para estos componentes.

El valor de actividad antitríptica resultó despreciable en relación a los observados en harinas integrales (1,2 frente á 37-100 UTI/mg). Otro tanto puede decirse de la actividad ureásica (0,15 frente á 2-2,1 unidades de pH). Fue en razón de los bajos valores de actividad ureásica y antitríptica que se decidió obtener cascarilla de poroto nacional por separación manual, desde que podría sospecharse que el calentamiento previo del poroto á 60-80º hasta contenido acuoso 7-10% en el descascarillado industrial podría haber provocado la inactivación de esas actividades. A este fin se analizó, en esos aspectos, cascarilla de poroto de la var. Blemville, observando los siguientes valores: humedad 4,60%, actividad ureásica (unidades de pH) 0,35, actividad antitríptica (UTI/mg) 2,15.

El interés que revisten los valores de actividad antitríptica llevó a lograr una partida de cascarilla de producción nacional semiindustrial, var. Bragg (Consejo de Investigación-Universidad Nacional de Salta) separada mediante sistemas mecánicos y aventamiento sin tratamiento térmico. En este caso se observaron los siguientes valores: humedad 12,64%, actividad ureásica (unidades de pH): 1,4; actividad antitríptica (UTI/mg): 3,63. Las cifras re-

gistradas para estas dos últimas partidas de cascarilla fueron superiores a las del producto brasileño no debiendo descartarse la posible incidencia del proceso térmico operando en este último caso sobre los valores. De todas maneras las cifras observadas siguen siendo despreciables y no señalan riesgos para la elaboración de alimentos balanceados, debiendo ser objeto de nuevos análisis en el futuro.

2.- Sobre el contenido lipídico.

La Tabla 14 informa los valores obtenidos para el producto de Brasil en sus contenidos de lípidos extraibles por hexano, por mezcla ternaria $Cl_3CH:CH_3OH:H_2O$ y en lípidos retenidos, así como los valores para ácidos totales e insaponificable de cada uno de ellos expresados % de lípidos y % de cáscara en base seca.

Las composiciones acídicas de estas tres fracciones de lípidos procedentes de la cáscara se determinaron por CGL de ésteres metílicos con los resultados (% de ácidos totales) que se observan en la Tabla 15.

Los valores hallados respecto de los observados para aceites crudos, lípidos extraídos por mezcla ternaria y lípidos retenidos de las harinas estudiadas en este trabajo fueron significativamente diferentes como surge de la observación de las Tablas 8, 12 y 15 y de la consideración de las composiciones acídicas de los aceites crudos[45]. Las Figuras 9, 10 y 11 reproducen los cromatogramas de los ésteres metílicos de ácidos totales de las tres fracciones de lípidos de la cascarilla.

Operando sobre los respectivos insaponificables se procedió al fraccionamiento en placa delgada de Sílica Gel G aislando las fracciones de esteroles que se estudiaron por CGL. Los resultados figuran en la Tabla 16

habiendo registrado los mismos componentes que en los lípidos de las harinas y de los aceites crudos. Para lípidos extraídos por hexano y por mezcla ternaria los valores fueron practicamente iguales observando una diferencia no muy significativa para la concentración de esteroles de la fracción de lípidos retenidos. Es de destacar el elevado contenido en sitosterol registrado en las tres fracciones de lípidos (80,4-84,8% de esteroles totales); esta cifra cobra mayor interés si se tiene presente que los contenidos en esteroles de los lípidos extraidos por hexano y por mezcla ternaria representaron 9,75 y 5,80% respectivamente. Los contenidos en esteroles % de lípidos retenidos no pudieron ser determinados. Con estos valores pudo estimarse que 100g de la cascarilla considerada contenían alrededor de 0,13g de sitosterol.

La Figura 12 reproduce el cromatograma correspondiente a los esteroles de la fracción de lípidos separados por hexano. Los de las fracciones de lípidos extraidos por mezcla ternaria y retenidos fueron practicamente similares.

- PARTE EXPERIMENTAL -

Harinas de extracción (hexano) de semilla de 49 variedades de soja (Marcos Juárez, Córdoba).

1.- Análisis de Composición general.

2.- Análisis cuantitativo de los hidratos de carbono.

a) Azúcares reductores

b) Azúcares invertibles

c) Hidratos de carbono sacarificables

d) Identificación de los hidratos de Carbono

3.- Análisis de otros componentes.

a) Determinación de fósforo total

b) Determinación de fósforo de ácido fítico

c) Determinación de calcio

d) Determinación de lisina disponible

4.- Evaluación de las actividades ureásica y antitríptica.

a) Actividad ureásica

b) Actividad antitríptica

5.- Estudio sobre lípidos

a) Aislamiento y evaluación

b) Resolución en ácidos e insaponificable

c) Composiciones acídicas

d) Examen de la frección de esteroles

e) Fraccionamiento en capa delgada de lípidos extraídos por mezcla ternaria $Cl_3CH:CH_3OH:H_2O$

f) Presencia de lípidos aldehidogénicos

g) Confirmación de su presencia

6.- Lípidos retenidos

Cascarilla industrial de poroto de soja.

1.- Composición química general, otros componentes, actividades ureásica y antitríptica.

2.- Sobre el contenido lipídico.

a) Lípidos extraídos por hexano

b) Lípidos extraídos por mezcla ternaria $Cl_3CH:CH_3OH:H_2O$

c) Lípidos retenidos

d) Fracción de esteroles

Harinas de extracción (hexano) de semilla de 49 variedades de soja (Marcos Juárez, Córdoba).

Se dispuso de 49 variedades de poroto de soja provenientes de la Estación Experimental Marcos Juárez, INTA, Córdoba, pertenecientes a los cuatro ciclos de evolución, mencionadas en la Discusión.

Previa molienda se agotaron por hexano técnico en equipo Soxhlet (24 horas de extracción, seguidas de remolido y reextracción por 24 horas más). Las harinas resultantes se airearon y liberaron del solvente (45º, vacío) Fueron preservadas en frascos herméticos.

1.- Análisis de composición general.

Se practicó un estudio de composición general de las harinas integrales efectuando las siguientes determinaciones:

- Humedad (A.O.A.C. Official Method 13.3, 1950), operando sobre 0,5g de muestra (vacío, 100º hasta constancia de peso).
- Cenizas (A.O.A.C. Official Method 13.6, 1950), operando sobre 0,5g de muestra por calcinación en cápsula de Pt a 500-550º hasta obtención de cenizas blancas y peso constante.
- Nitrógeno total (Macrométodo Kjeldahl, A.O.A.C Official Method 2.24, 1950), utilizando aproximadamente 0,3 gramos de harina integral.
- Fibra cruda (A.O.A.C. Official Method 21.038, 1965), operando sobre 2,0g de harina integral.
- Lípidos totales (de acuerdo a las técnicas descriptas más adelante)
- Hidratos de carbono (de acuerdo a las técnicas descriptas más adelante)

2.- Análisis cuantitativo de los hidratos de carbono.

a) Azúcares reductores.

10g de harina se pesaron en un Erlenmeyer, neutralizando por agregado de 1g de $CaCO_3$, se añadieron 125 ml de etanol 50% (v/v) y mantuvo en baño de agua (1 hora, 83-87º) empleando un pequeño embudo en el cuello del Erlenmeyer como condensador. Una vez frío se estacionó por una noche, centrifugó 15 minutos a 1500 rpm, lavó por dos veces el residuo con 25-30 ml de etanol neutro cada vez, reuniendo los líquidos de lavado al sobrenadante original.

El líquido se concentró en rotavapor (45º, vacío parcial) hasta un volumen de 20-40 ml (eliminación del etanol) y se transfirió a un tubo de centrífuga en donde se procedió a la defecación por agregado de solución de acetato neutro de Pb, agitó y estacionó por 15 minutos, observando la formación de un precipitado floculento, El exceso de Pb se eliminó por agregado de solución saturada de oxalato de potasio seguido de centrifugación (20-25 minutos a 2500 rpm). Finalmente se llevó a volumen en matraz aforado (250 ml) (A.O.A.C. Official Method 29.043, 1965). Los azúcares reductores se determinaron gravimetricamente por el método de Munson y Walker (A.O.A.C. Official Method 29.038, 1965).

b) Azúcares invertibles.

A una alícuota de 50 ml de la solución obtenida para la determinación de azúcares reductores, se agregaron 5 ml de HCl δ= 1,10 y calentó en baño de agua a 60º durante 30 minutos. Se neutralizó la solución con NaOH 10% (tornasol) y llevó a volumen en matraz aforado (100 ml). Sobre una alícuota de esta solución se determinaron los azúcares invertibles (expresados como sacarosa) por el método de Munson y Walker antes mencionado (A.O.A.C. Official Method 29.026, 1965).

c) Hidratos de carbono sacarificables.

Se partió de 2g de harina integral que se suspendieron en 100 ml de agua agregando 10 ml de HCl δ = 1,125. Se hirvió durante 2 horas a reflujo y una vez fría, la solución se neutralizó con NaOH 10% (tornasol) y centrifugó llevando el sobrenadante a un volumen final de 250 ml. Los hidratos de carbono sacarificables se determinaron por el método antes citado.

d) Identificación de hidratos de carbono.

Se operó sobre las soluciones preparadas para las determinaciones de azúcares reductores e invertibles correspondientes a las variedades Hill y Bienville. En todos los casos se procedió a la purificación de las soluciones para su posterior análisis cromatográfico.

Una vez obtenidas las soluciones problema se las concentró en rotavapor (45º, vacío parcial) hasta unos 20 ml. Cada dilución se pasó por columnas de intercambio iónico (para eliminar interferencias debidas a sales presentes). Las resinas utilizadas fueron: Bio-Rad AG3-X4A (aniónica, basicidad media) y Zeokarb 225 (catiónica, acidez fuerte), previamente activadas. Se sembró la columna con la totalidad de la muestra problema (aproximadamente 20 ml) y eluyó con agua destilada, recogiéndose los primeros 500 ml (goteo lento)(las columnas se lavaron con 2-3 litros de agua destilada para eliminar los azúcares remanentes). Los primeros 500 ml recogidos se evaporaron en rotavapor (40º, vacío parcial) con pequeños agregados de etanol para ayudar a la evaporación hasta sequedad. El residuo se tomó con etanol para la siembra cromatográfica.

Se prepararon tiras de papel Whatman Nº 1 para uso cromatográfico de ancho conveniente. Se sembraron 2-3 gotas de patrones (glucosa, sacarosa, levulosa, galactosa y rafinosa) 10 mg/ml cada 2 cm con capiler de vidrio

mientras que en las muestras la siembra varió entre 5 y 15 gotas según la concentración de azúcares presentes.

Se corrió la cromatografía en papel (descendente) durante 20 horas utilizando como solvente de desarrollo n-butanol-piridina-agua (6:4:3).

Para la identificación de glucosa y galactosa se reveló con NO_3Ag, 1 ml de solución saturada llevada a 20 ml con acetona; NaOH 0,05 N en etanol 50% y $S_2O_3Na_2$ al 5% en agua[66], obteniendo las manchas correspondientes a los azúcares con grupo carbonilo libre.

Para la identificación de sacarosa y rafinosa se reveló con anilina-difenilamina-PO_4H_3[67,68,69] tratando luego el cromatograma con calor por 10 minutos a 85º; con este tratamiento se observó además, un componente no identificado, presumiblemente staquiosa, oligosacárido del que no se poseía patrón.

La fructuosa se reveló una vez seco el papel con resorcina-butanol-ClH 0,25 N (reactivo de grupos ceto) dando una mancha rosada.

3.- Análisis de otros componentes.

De acuerdo a lo mencionado en la Discusión se analizaron los siguientes componentes:

a) Determinación de fósforo total.[70,71]

Se determinó fósforo total en las harinas integrales y fósforo lipídico en los lípidos extraídos por mezcla ternaria Cl_3CH:CH_3OH:H_2O.

Se pesó entre 0,10 y 0,15g de harina integral o se tomó una alícuota de 25 ml de solución clorofórmica de los lípidos mencionados que contenían entre 0,09 y 0,11 g de lípidos eliminando el Cl_3CH por destilación, en rotavapor (60-70º, vacío).

Se adicionó de 5 ml de SO_4H_2 concentrado, 10 ml de NO_3H 65% calentando hasta aparición de vapores blancos (sulfúricos), agregando muy pequeñas can-

tidades de NO_3H y calentando nuevamente hasta comienzo de vapores sulfúricos en etapas sucesivas hasta la obtención de un líquido límpido e incoloro. Se agregó 1 ml de agua bidestilada y unos pocos cristalitos de urea, llevando nuevamente por calentamiento hasta aparición de vapores sulfúricos (eliminación de restos de NO_3H).

El producto de la mineralización se transvasó a un matraz aforado de 25 ml con agua bidestilada llevando a volumen.

Operando sobre este producto se procedió a la valoración del fósforo total según la técnica de Bartlet[71].

Los contenidos en fósforo total se calcularon en base a la curva de calibración lograda con soluciones patrón de PO_4H_2K (200μgP/100 ml) operando en igualdad de condiciones.

Los resultados para la harina integral figuran en la Tabla 4, mientras que los correspondientes al fósforo lipídico de los lípidos extraídos por mezcla ternaria se pueden observar en la Tabla 6.

b) Determinación de fósforo de ácido fítico.[72]

El fósforo de ácido fítico se determinó sobre las harinas integrales de 12 variedades. Se pesó alrededor de 3,0g, transfirió a un Erlenmeyer de 250 ml y extrajo con 50 ml de ácido tricloroacético (ATC) al 3% durante 1 hora con agitación magnética. Se centrifugó la suspensión y filtró el sobrenadante a través de papel altamente retentivo. Se transfirieron 15 ml del filtrado a un tubo de centrífuga de 40 ml, se agregaron 4 ml de solución de Cl_3Fe (conteniendo 2 mg de Fe^{3+} /ml en ATC al 3%) a la alícuota y 2 ó 3 gotas de Na_2SO_4 calentando en baño de agua hirviente por 45 minutos. Se centrifugó y decantó cuidadosamente un sobrenadante claro. El precipitado se lavó dos veces por dispersión en 25-30 ml de ATC 3%, calentando en baño de agua

caliente por 10 á 15 minutos y centrifugando. Durante los lavados se evitaron las evaporaciones que condujeran a una mayor concentración de ácido.

Se dispersó el precipitado con unos pocos ml de agua destilada y agregaron 3 ml de solución de NaOH 1,5 N mezclando bien. Se diluyó a aproximadamente 30 ml y calentó en baño de agua hirviente durante 30-50 minutos para coagular el precipitado de $Fe(OH)_3$. Se centrifugó 10 minutos (1500 rpm), decantó el sobrenadante y lavó con agua, volviendo a centrifugar y decantar otra vez.

Se disolvió el $Fe(OH)_3$ en 0,5 ml de ClH 0,5 N calentando en baño de agua hirviente 10 minutos, transfiriendo a un matraz de 100 ml ayudando con 10-25 ml de ClH 0,1 N y se llevó a volumen con agua destilada.

Se transfirió una alícuota de 20 ml a un matraz aforado de 100 ml llevando a volumen con agua destilada. En esta solución se determinó Fe colorimétricamente.

Los reactivos y la curva "standard" se prepararon de acuerdo a los procedimientos señalados en A.O.A.C.[73] para la determinación colorimétrica de Fe con o-fenantrolina, después de reducir a Fe^{+2} con clorhidrato de hidroxilamina, midiendo a 510 nm.

Para cada muestra se realizó un blanco de reactivos. De la curva "standard" previamente preparada, se calculó el contenido en fósforo de ácido fítico de las muestras a partir del valor de Fe, teniendo en cuenta las diluciones y suponiendo una relación molecular de Fe: P de 4:6.

Los resultados obtenidos figuran en la Tabla 4, observando valores extremos de 0,16 y 0,20% con un promedio de 0,18.

c) Determinación de calcio.

Siguiendo el método descripto en A.O.A.C. (Official Method 13.014, 13.006, 13.013, 1965) se partió de 5 g de harina integral obteniendo las cenizas blancas (500-550º) adicionando para ello 0,5 ml de solución saturada de $Mg(NO_3)_2$.

Se agregaron 5 ml de ClH concentrado calentando en baño de agua hasta residuo seco; añadió luego 2 ml de ClH concentrado y calentó durante 5 minutos en baño de agua cubriendo la cápsula con vidrio de reloj. Se filtró sobre vaso de precipitados de 400 ml y diluyó aproximadamente a 150 ml agregando 8-10 gotas de verde de bromocresol como indicador y solución de acetato de sodio al 20% hasta viraje del indicador (azul). Se cubrió con vidrio de reloj y calentó a ebullición, dejó enfriar y precipitó el calcio lentamente agregando solución al 3% de ácido oxálico y agitó hasta que la solución tomó color verde. Se hirvió durante 1-2 minutos y dejó reposar una noche. Al día siguiente se filtró por papel cuantitativo banda azul lavando el vaso de precipitados con solución de NH_4OH (1 + 50). Se pasó a un Erlenmeyer y tituló con solución de MnO_4K 0,05 N á 70-90º previo agregado de una mezcla de 125 ml de H_2O -5 ml de SO_4H_2 concentrado. Los resultados obtenidos oscilaron entre 273 y 409 mg%g con un valor promedio de 338, datos que figuran en la Tabla 4.

e) Determinación de lisina disponible[74,75].

Se aplicó la técnica de Conkerton y Frampton[74] a las harinas de 19 variedades de poroto de soja.

Aproximadamente 0,35 g de harina integral se pesaron en Erlenmeyers de 500 ml (triplicado), agregando 3 bolitas de vidrio y 10 ml de solución de $NaHCO_3$ al 10% a cada recipiente.

Se mezcló bién y dejó en reposo por 10 minutos a la temperatura de la

habitación. Luego se agregaron 10 ml de solución alcohólica de 2,4-dinitrofluorbenceno a dos de los tres recipientes (uno sirve como blanco). Todos fueron sacudidos suavemente en agitador mecánico horizontal por 2 horas a temperatura ambiente.

Las mezclas fueron concentradas hasta casi sequedad en corriente de aire tibio (30-40º).

A través de 4 extracciones sucesivas con éter etílico (porciones de 50 ml) se extrajeron de las mezclas adicionadas de reactivo el exceso de éste y algo de 2,4-dinitrofenol producido en la reacción (producto colateral).

La tercera muestra, a la cual no se le agregó reactivo y que sirvió como blanco, fue extraída con dos porciones sucesivas de éter etílico (50 ml cada vez). Por pasaje de corriente de aire tibio se eliminaron las trazas de éter.

Las muestras y blanco se hidrolizaron por 6 horas (autoclave, 121º, 16 libras de presión) con ClH 6 N (50 ml). Inmediatamente y aún en caliente, los productos de hidrólisis fueron filtrados a través de crisoles filtrantes de vidrio prensado (G3) ayudando con vacío. El Erlenmeyer y el filtro se lavaron con agua destilada hasta un volumen cercano pero menor de 100 ml. Se trasvasaron a matraces de 100 ml, completando el volumen con agua destilada y mezclando bien.

De cada hidrolizado se separó una alícuota de 10 ml que fue extraída en ampolla de decantación con cuatro porciones sucesivas de éter etílico (50 ml ceda una) para eliminar los 2,4-dinitrofenilaminoácidos interferentes y el resto de 2,4-dinitrofenol. El blanco se lavó solamente dos veces con éter etílico (50 ml cada una). Las alícuotas así lavadas se diluyeron a 25 ml en matraz aforado con agua destilada.

De cada solución se midieron alícuotas de 2 ml por duplicado en matraces aforados de 25 ml. Una de ellas fue diluída a volumen con ClH 1 N y la otra con solución acuosa de $NaHCO_3$ al 10%. Se agitaron para mezclar bien y leyeron las absorbancias en espectrofotómetro a 360 nm, usando el blanco correspondiente como solución de referencia. Los resultados obtenidos figuran en la Tabla 4 y oscilaron entre 5,53 y 6,61 g de lisina/16 g de nitrógeno.

4.- Evaluación de las actividades ureásica y antitríptica.

a) Actividad ureásica.

Se procedió a evaluar la actividad ureásica en las harinas integrales de 48 variedades de poroto de soja, para lo cual se pesó exactamente 0,200 g (± 0,001 g) de muestra siguiendo la técnica descripta por A.O.C.S. (Tentativ Method Ba 9-58, 1963). Este método determina la actividad ureásica en los productos de soja bajo las condiciones del ensayo.

La muestra fue molida finamente y por lo menos el 60% de la misma pasó por tamiz Nº 40 "U.S. Standard". Se utilizó un pHmetro Metrohm, modelo E 353 B con lecturas al 0,02 de pH y electrodo de vidrio combinado Metrohm.

Los resultados obtenidos que figuran en la Tabla 5 fueron semejantes para las 48 variedades, con valores entre 1,97 y 2,1 unidades de pH.

b) Actividad antitríptica[50,51].

La muestra de harina integral de soja se molió y tamizó de manera tal que el 95% de la misma pasara por tamiz de 100 mallas (149 μ ASTM).

Aproximadamente 1g de este producto se pesó y extrajo con solución 0,01 N de NaOH (50 ml) con agitación permanente durante 1 hora. Se centrifugó por 10 minutos a 2000 rpm y el extracto obtenido se llevó a una dilución tal que 1 ml del mismo produjese una inhibición de tripsina del 20-60% (para las harinas integrales esa dilución fue 1:100). En el extracto centrifugado

se determinó nitrógeno por el método de Kjeldahl.

Se midieron por triplicado en tubos de ensayo 0,0; 1,0; 1,2; 1,4; 1,6 y 1,8 ml de la dilución correspondiente del extracto centrifugado ajustando el volumen final a 2,0 ml con agua. Una serie (blanco) se adicionó de 5 ml de sustrato sintético (BAPA) precalentado a 37º, agitó, incubó exactamente 10 minutos a 37º y adicionó de 1 ml de ácido acético 30% y de 2,0 ml de solución de tripsina (4 mg de tripsina/200 ml ClH 0,001 N) agitando después del agregado de cada reactivo. Se filtró antes de efectuar la lectura de absorbancia. Las dos series restantes se adicionaron de 2,0 ml de solución de tripsina y de 5 ml de solución de BAPA precalentado a 37º, agitando bien después del agregado de cada reactivo. Se incubó exactamente 10 minutos a 37º, se agregó luego 1,0 ml de ácido acético 30%, agitó y filtró antes de la lectura de absorbancia a 410 nm, contra el blanco correspondiente.

Expresión de la actividad - Una unidad (UT) está definida arbitrariamente como el incremento en 0,01 unidades de absorbancia a 410 nm producido por 10 ml de la mezcla de reacción bajo las condiciones experimentales dadas. La actividad del inhibidor de tripsina se define como el número de unidades de tripsina inhibidas (UTI).

Cálculos - Una vez calculados los valores de UTI de acuerdo a la definición anterior y expresados por ml de extracto diluído ensayado, se opera con el valor promedio de todos los valores que cumplen con la condición de linealidad experimental (generalmente entre 20-60% de inhibición), a fin de expresar los resultados como sigue:

$$\text{UTI/mg proteína} = \frac{\text{UTI/ml extracto diluído}}{\text{mg proteína/ml extracto diluído}}$$

$$\text{UTI/mg producto} = \frac{\text{UTI/ml extracto diluído}}{\text{mg producto/ml extracto diluído}}$$

Los valores logrados que figuran en la Tabla 5 oscilaron entre 84,0 y 216,8 UTI/mg proteína o sea 37,5 y 100,4 UTI/mg producto.

5.- Estudio sobre lípidos.

a) Aislamiento[55,62,64] y evaluación.

La harina resultante del agotamiento por hexano (aproximadamente 35g) se suspendió en la mezcla ternaria Cl_3CH:CH_3OH:H_2O (10:20:7,6 v/v) (Cl_3CH 96ml; CH_3OH 190 ml ; H_2O 74 ml; total 360 ml), agitó periódicamente y a las 24 horas se centrifugó (20 minutos, 2800 rpm). El insoluble se trató con 60 ml de la mezcla solvente citada, centrifugó y repitió la extracción con otros 360 ml de la mezcla ternaria. Todos los extractos líquidos se reunieron y adicionaron de 170 ml de solución de ClK al 0,88% provocando la separación de una capa inferior (Cl_3CH) que decantó nítidamente después de 1 hora.

Una alícuota de 25 ml de esta solución clorofórmica, que contiene los lípidos extraídos, se trasvasó a un balón tarado de 50 ml y el solvente se eliminó en rotavapor (60-70º, vacío) completando el secado en estufa de vacío (100º) durante 30 minutos. Se dejó enfriar en desecador y pesó obteniendo entre 0,078 y 0,120 g de lípidos que se expresaron % de harina (b.s.) según figura en la Tabla 6.

b) Resolución en ácidos totales e insaponificable.

Los lípidos obtenidos con la técnica ya descripta se saponificaron añadiendo 10 ml de solución de KOH al 10% en etanol de 96% libre de aldehídos (45 minutos, reflujo). Se diluyó con 40 ml de agua y extrajo por tres

veces con 70 ml de éter etílico por vez; los extractos etéreos reunidos se lavaron con agua (40 ml), con solución al 1% de KOH en etanol-agua y nuevamente con agua (40 ml) hasta reacción neutra al tornasol de los líquidos acuosos. Se recuperó el éter etílico en rotavapor (50-60º) y los insaponificables se llevaron a peso constante (100º, vacío), obteniendo entre 0,017 y 0,029g del mismo que fueron expresados % de lípidos y de harina (b.s.) figurando los correspondientes valores en la Tabla 6 comentada en la Parte II.

La fase hidroalcohólica reunida con los líquidos procedentes de la purificación de los extractos etéreos del insaponificable, se acidificó con ClH (1:4,heliantina) extrayendo exhaustivamente los ácidos liberados mediante tres extracciones con 40 ml de éter etílico por vez. De los extractos etéreos reunidos, lavados con agua y deshidratados con SO_4Na_2 anhidro, se recuperó el éter etílico, eliminando las últimas trazas con gas N_2 en caliente. Las cantidades de ácidos totales obtenidas oscilaron entre 0,020 y 0,064 g que expresados % de harina (b.s.) y de lípidos figuran en la Tabla 6.

Sobre los insaponificables correspondientes a las 12 variedades analizadas se determinó el índice de yodo (Rosenmund) con los valores mencionados y comentados en la Discusión.

c) Composiciones acídicas.

Los ácidos totales obtenidos, libres de insaponificable (0,020-0,064g) se hirvieron a reflujo (2 horas) con 20 ml de metanol anhidro conteniendo 1,5% en peso de ácido sulfúrico como catalizador[76]. Luego de enfriar se diluyó con 40 ml de agua y extrajo dos veces con 60 ml de éter etílico por vez. Los extractos etéreos se lavaron con agua hasta reacción neutra al tornasol, con solución acuosa de CO_3K_2 0,05% y finalmente con agua, recuperando el éter

etílico (rotavapor). Los ésteres metílicos se examinaron por CGL.

Las composiciones acídicas se determinaron en un equipo Perkin Elmer Vapor Fractometer, Mod. 154, equipado con detector de ionización de llama, columna de vidrio Pyrex de 3m x 4,5 mm de diámetro interno, material de relleno formado por Chromosorb W lavado ácido (granulometría 60-80) y adipato de etilenglicol poliéster (15% sobre relleno total). Se operó a 194º regulando la temperatura del "block" de inyección en la indicación 90 (escala empírica de registro), nitrógeno como fase móvil (presión de entrada 18-24 psi) y con inyecciones de 4-8 μl de ésteres al 5% en éter etílico..Los componentes se identificaron en base al tiempo de retención (Tr) y las evaluaciones cuantitativas se resolvieron por triangulación. Las respuestas cuantitativas fueron previamente verificadas por examen CGL de mezclas de ésteres metílicos de ácidos grasos de composición conocida y comprobando concordancia de resultados para la determinación de ácidos linoleico y linolénico por CGL y por examen espectrofotométrico luego de isomerización alcalina (A.O.C.S. Method Cd 7-58, 1960).

En la Discusión se ha hecho referencia al examen por CGL de los ésteres metílicos de ácidos totales de los lípidos extraídos por mezcla ternaria, resumiendo la Tabla 8 los valores de composición acídica encontrados.

La Figura 1 representa el cromatograma correspondiente a la variedad Tracy.

d) Examen de la fracción de esteroles.

Se mezclaron 60 ml de cada uno de los extractos clorofórmicos que contienen a los lípidos extraídos por mezcla ternaria de las 12 variedades estudiadas, se eliminó el Cl_3CH (rotavapor, vacío, 60-70º) obteniendo 3,10 g de lípidos totales. Se saponificó y extrajo el insaponificable según la técnica

descripta, obteniendo 0,1177g que se disolvieron en etanol anhidro llevando a volumen en matraz aforado de 25 ml.

En una alícuota de 10 ml se precipitaron los esteroles como digitónidos[59] obteniendo 7,9 mg de los mismos que representan 0,16g de esteroles libres % de lípidos (expresados en sitosterol).

Los 15 ml restantes se utilizaron para separar los esteroles en placa delgada según la técnica de Fedeli y col.[60]. Se emplearon placas de 20 x 20 cm de lado recubiertas de Silicagel G (5 g de silicagel en 10 ml de agua) utilizando 30g de esta suspensión por placa (espesor 0,5 mm). Las placas se activaron por calentamiento en estufa a 110º durante 90 minutos, sembrando en forma de banda 72 mg del insaponificable mezcla disuelto en éter etílico-etanol anhidro (1:1 v/v). Paralelamemente y en forma separada se sembró una banda de 2 cm de largo con solución de insaponificable y a su lado una mancha de 0,5 cm con patrón de colesterol, desarrollando durante 35 minutos con mezcla de hexano-éter etílico (1:1 v/v). Las placas secadas al aire, se revelaron en las bandas pequeñas con 2,7-dicloro-fluoresceína al 2% observando (bajo luz UV,368 nm) la porción del colesterol y la banda de esteroles del insaponificable (fluorescencia verde clara sobre fondo azul oscuro). Los raspados de las zonas de esteroles se eluyeron con éter etílico obteniendo los esteroles que se examinaron por CGL.

A estos fines se empleó un equipo Aerograph Gas Chromatograph, modelo 204, equipado con detector de ionización de llama, columna de vidrio Pyrex de 2 m de largo por 3 mm de diámetro interno, relleno constituído por Chromosorb G-HP (silanizado, granulometría 80-100), conteniendo 2% de fase fija (polaridad media) OV-17, temperatura de horno 260º, temperatura de in-

yector y detector 315º, N_2 como fase móvil (presión de entrada 75-80, escala empírica), atenuación x 12,8 y con inyecciones de 10 μl de esteroles en solución al 5% en éter isopropílico.

Habiéndose señalado[77] que la CGL de esteroles libres puede verse afectada por el empleo de columnas de acero inoxidable, se utilizó la de vidrio Pyrex ya mencionada, reemplazando el inyector metálico original del equipo por una prolongación vacía de la columna hasta el "septum".

Los valores de presión de entrada y de temperatura de columna, inyector y detector fueron fijadas para encontrar las condiciones más convenientes de resolución de una mezcla de campesterol, sitosterol y stigmasterol.

El cromatograma obtenido (Figura 2) registró los siguientes valores de Tr (expresados en cm a partir del comienzo del primer pico del solvente): colesterol 20,15, campesterol 26,15, stigmasterol 28,55, sitosterol 32,75 correspondientes a los siguientes valores de Tr/Tr colesterol: colesterol 1,00, campesterol 1,30, stigmasterol 1,42, sitosterol 1,62. Además se registró un pico con valor de Tr/Tr colesterol de 0,80 (no identificado).

Por evaluación de áreas se determinó la composición en esteroles individuales de los esteroles totales, con los resultados que muestra la Tabla 9.

e) Fraccionamiento en capa delgada de lípidos extraídos por mezcla ternaria Cl_3CH:CH_3OH:H_2O.

Los componentes lipídicos, correspondientes a los lípidos extraídos por mezcla ternaria de las variedades de menor y mayor contenido en fósforo lipídico (var. Minaira y Beeson respectivamente) se examinaron por fraccionamiento sobre placas de vidrio recubiertas con suspensión de Silicagel en

agua (1:2 p/v). El espesor de la capa fue de 250μ para la escala analítica; las placas se dejaron secar al aire 24 horas y luego se activaron a 110º por una hora, preservándolas en desecador hasta lograr que llegaran a temperatura ambiente.

Como solvente de saturación y desarrollo se utilizó Cl_3CH:CH_3OH:H_2O (65:25:4 v/v) de acuerdo a lo señalado por Wagner y col[78]. La preparación de las placas así como otras operaciones de tipo general respondieron a lo señalado por Stahl[79]. Se sembraron 100 μl de solución de lípidos al 0,1% en mezcla Cl_3CH:CH_3OH (2:1 v/v) (micropipeta de 50μl). Como testigos se sembraron soluciones aproximadamente al 0,1% de fosfatidilcolina, lecitina comercial de uso alimentario y aceite de girasol (lípidos neutros).

La muestra se corrió por duplicado y el sector correspondiente al corrimiento se reveló independientemente cubriendo el resto de la placa con un vidrio.

Las soluciones de revelado fueron las siguientes:

a) Reactivo azul de bromotimol-NH_3 [80]-40 mg de azul de bromotimol disueltos en 100 ml de NaOH 0,01 N. Después del pulverizado del sector de la placa las manchas correspondientes desarrollan color amarillo. Al someter a vapores de NH_3 las manchas viran al color azul sobre fondo celeste.

b) Reactivo de Dragendorff - (para fosfolípidos conteniendo colina)

Solución 1: se disolvieron 0,85 g de nitrato básico de bismuto en una mezcla de 10 ml de ácido acético glacial y 40 ml de agua.

Solución 2: se disolvieron 0,85 g de IK en 20 ml de agua.

Solución de revelado: Se mezclaron 5 ml de solución 1, 5ml de solución 2 y 20 ml de ácido acético glacial y se completó a 100 ml con agua.

El color característico de las manchas fue anaranjado.

c) Vapores de yodo - Exposición de la placa a vapores de yodo que permiten visualizar los lípidos neutros como manchas pardas. Es un reactivo de revelado totalmente inespecífico.

d) Reactivo para aminofosfátidos - Ninhidrina al 0,2% en etanol.

Luego de pulverizado y por calentamiento del sector de la placa con aire caliente las manchas correspondientes desarrollan color rojo-violáceo. Visualiza fosfolípidos que contengan grupos $-NH_2$.

e) Reactivo para glicolípidos[80] - 200 mg de orcinol disueltos en 100 ml de SO_4H_2 al 75% (v/v). Se pulverizó la placa y calentó a 100º durante 15 minutos. Los glicolípidos desarrollan color azul-violeta sobre fondo claro.

En escala analítica, los colinafosfolípidos tuvieron igual corrimiento que el patrón sembrado (Dragendorff positivo) mientras que los etanolaminafosfolípidos correspondientes, revelados por ninhidrina 0,2% tuvieron similar corrimiento al que presentaron los etanolaminafosfolípidos de lecitina comercial. Los Lípidos neutros revelados con I_2 y con azul de bromotimol-NH_3 corrieron igual que el patrón sembrado (aceite de girasol). El revelado con orcinol señaló la presencia de posibles glicolípidos observando manchas color violáceo con Rf similar al presentado por los etanolaminafosfolípidos.

A los fines del estudio de las composiciones acídicas de algunos componentes separables en Sílicagel G (escala preparativa) se corrieron sobre placas recubiertas con espesor de 500μ. Dado que los resultados cualitativos para las dos variedades analizadas, Beeson y Mineira, fueron prácticamente los mismos, se decidió efectuar la siembra en escala preparativa sobre la var. Beeson.

Se sembraron 90 mg de lípidos extraídos por mezcla ternaria disueltos en la mínima cantidad posible de Cl_3CH:CH_3OH (2:1 v/v) en bandas de 15cm

de largo con micropipeta de 50 μl. Lateralmente se sembraron franjas de aproximadamente 1 cm que fueron reveladas en forma independiente, cubriendo el resto de la placa con un vidrio. Una de ellas fue revelado con azul de bromotimol-NH_3 y la otra con ninhidrina 0,2% en etanol y posterior calentamiento parcial (sólo en la zona) con aire caliente. El sector central de la placa se pulverizó con solución al 0,2% de 2,7-diclorofluoresceína en etanol[81] (reactivo no destructivo) y se observó al UV a 254 nm. Según las coloraciones características y las posiciones relativas en el cromatograma, se ubicaron las bandas correspondientes a lípidos neutros (LN), colinafosfolípidos (CFL) y etanolaminafosfolípidos (EF^L). Los raspados de las zonas correspondientes fueron eluidos con éter etílico recuperando los lípidos (rotavapor) que se saponificaron por reflujo durante 1 hora con 10 ml de solución de KOH al 4% en etanol libre de aldehídos. Se hicieron extracciones con éter de petróleo de presuntos insaponificables para los tres casos (de existir plasmalógenos o lípidos aldehidogénicos no fosforados, la saponificación engendraría insaponificables constituídos por glicerina esterificada en uno de sus hidroxilos con alcoholes α-β insaturados). Estos insaponificables se reservaron para su posterior transformación en dimetilacetales.

De los líquidos alcalinos conteniendo los jabones libres de insaponificable se aislaron los ácidos totales por extracción con éter etílico previa acidificación a pH 4 (heliantina). Los ácidos se esterificaron con $CH_3OH:SO_4H_2$[76] y los ésteres obtenidos se examinaron por CGL en sus composiciones acídicas con los resultados que figuran en la Tabla 10. Las Figuras 3,4 y 5 corresponden a los cromatogramas de LN, EFL y CFL, respectivamente.

Los ésteres metílicos de los ácidos totales de los CFL fueron hidrogenados[82] a presión y temperatura normales con Pd 10% /C en ciclohexano.

Los ésteres metílicos hidrogenados se analizaron por CGL, Figura 6, donde se observa la desaparición de los picos correspondientes a 16:1 y 14:1 además de los insaturados habituales.

f) Presencia de lípidos aldehidogénicos.

Se mezclaron los insaponificables procedentes de las fracciones de LN, EFL y CFL; el producto obtenido se hirvió a reflujo con 10 ml de CH_3OH anhidro conteniendo 1,5% en peso de SO_4H_2 concentrado (transformación de los eteróxidos en los dimetilacetales). Después de enfriar el líquido se vertió sobre 50 ml de solución de CO_3K_2 al 3% extrayendo los dimetilacetales con éter etílico (este proceso persiguió evitar la presencia simultánea de dimetilacetales y agua en medio ácido que habría provocado la descomposición de los dimetilacetales con la formación de los respectivos aldehídos). Por evaporación del éter etílico se aislaron los dimetilacetales que se examinaron por CGL. En la Figura 7 puede observarse el cromatograma correspondiente.

g) Confirmación de su presencia[63,64]

Una parte de los dimetilacetales provenientes de los LN, EFL y CFL se disolvió en ácido acético glacial (1 ml) y alícuotas de 0,2 ml se hicieron reaccionar con el reactivo Fucsina-SO_2.

Preparación del reactivo- 0,1 g de clorhidrato de pararosanilina (Fucsina básica) se disolvió en aproximadamente 70 ml de agua a la que se había agregado 5 ml de ClH 2 N y 0,5 g de SO_3HNa puro y seco. Se llevó a volumen con agua destilada (100 ml) y estacionó agitando ocasionalmente hasta decoloración total. Se mantuvo en frasco oscuro de muy buen cierre para evitar pérdidas de SO_2. Además se dispuso de ácido acético glacial p.a. y n-hexanol previamente ensayados comprobando que daban reacción negativa.

Ensayos previos. 7 mg de hexanal se disolvieron en 10 ml de ácido acético. A 0,2 ml de esta solución se agregó 0,2 ml de ClH 2 N y calentó en baño de agua por 10 minutos a 55º. Después de enfriar el tubo con agua a temperatura ambiente se agregaron 0,22 ml de solución acuosa de NaOH 2 N mezclando bien antes de agregar 2,0 ml de reactivo Fucsina-SO_2. La reacción resultó netamente positiva.

Una reacción practicada sobre 0,2 ml de dimetilacetales sin agregado de ClH 2 N condujo a reacción positiva neta en un lapso de 20 minutos (la liberación del aldehído a partir del dimetilacetal ocurrió por acción de la acidez provista por el SO_2 del reactivo). En presencia de ClH 2 N la reacción fue netamente positiva en forma inmediata.

Por lo tanto se concluyó que esta fracción de lípidos contiene lípidos aldehidogénicos.

6.- Lípidos retenidos[65].

En la Discusión se ha hecho mención de la existencia de lípidos en las harinas agotadas por solventes polares y no polares.

Aproximadamente 10 g de harina agotada por hexano y por mezcla ternaria se hirvió a reflujo durante una hora con 100 ml de solución de KOH al 6% en etanol 96% libre de aldehídos. Enfrió, acidificó con SO_4H_2 (1:1 v/v, placa de toque) y centrifugó por 20 minutos a 2800 rpm, lavando dos veces con 30 ml de etanol cada vez. Los líquidos alcohólicos reunidos se extrajeron en ampolla con hexano, previamente pasado por el insoluble, tres veces; la primera con 100 ml y las dos restantes con 60 ml cada una. Los extractos en hexano reunidos se lavaron con agua, filtraron y llevaron a seco en rotavapor.

El residuo se tomó por 30 ml de mezcla etanol:agua (2:1 v/v), alcalinizó con solución alcohólica de KOH al 6% (fenolftaleína) y extrajo el mate-

rial insaponificable con éter etílico.

De los líquidos hidroalcohólicos se aislaron los ácidos grasos libres de insaponificable previa acidificación con SO_4H_2 diluido (heliantina) por extracción con éter etílico. Se obtuvieron (luego de llevar a peso constante, 100º, 5 Torr) entre 0,007 y 0,055 g de insaponificable y entre 0,004 y 0,030 g de ácidos grasos. El total de lípidos retenidos así obtenidos osciló entre 0,022 y 0,050 g para las muestras analizadas. En la Tabla 11 figuran los valores de insaponificable y ácidos totales expresados % de lípidos y de harina (b.s.).

El total de ácidos grasos recuperados se transformó por esterificación con 10 ml de CH_3OH anhidro conteniendo 1,5% en peso de SO_4H_2 como catalizador de esterificación[76] (reflujo, 2 horas) y los ésteres metílicos obtenidos se reservaron para el estudio de la composición acídica por CGL. La Tabla 12 reune los valores de composición acídica encontrados para los ácidos totales de los lípidos retenidos de las 10 variedades estudiadas.

Se realizó la separación de esteroles por cromatografía en placa delgada según la técnica de Fedeli y col.[60] ya descripta, operando con el insaponificable mezcla proveniente de los insaponificables correspondientes a las 10 variedades estudiadas (0,21 g). El raspado obtenido se eluyó con éter etílico y se examinó por CGL en las mismas condiciones anteriores, no observando la presencia de esteroles.

Se determinó el índice de yodo (Rosenmund) del insaponificable mezcla resultando un valor de 85,3.

Cascarilla industrial de poroto de soja.

Se dispuso de cascarilla industrial de poroto de soja (Brasil) obteni-

da a partir del poroto durante el proceso de obtención del aceite como se describe en la Discusión.

1.- Composición química general, otros componentes y actividades ureásica y antitríptica.

Se practicó un estudio de composición general efectuando las siguientes determinaciones (Tabla 13):

- Humedad (A.O.A.C. Official Method 13.3, 1950) operando sobre 1,5g de muestra (vacío, 100º, hasta peso constante).
- Cenizas (A.O.A.C. Official Method 13.6, 1950) operando sobre 1,33 g de muestra por calcinación en cápsula de Pt a 500-550º hasta obtención de cenizas blancas y peso constante.
- Nitrógeno total (Macrométodo Kjeldahl, A.O.A.C. Official Method 2,24, 1950) operando sobre 2,6 g de muestra.
- Fibra cruda (A.O.A.C. Official Method 21.038, 1965) se trabajó sobre 2,0 g de cascarilla.
- Hidratos de carbono. Se procedió a la determinación de los azúcares reductores, invertibles y los hidratos de carbono sacarificables, realizando las determinaciones según las técnicas mencionadas para el caso de las harinas integrales.
- Lípidos totales (de acuerdo a las técnicas descriptas más adelante).
- Fósforo total[70,71]. Se partió de 1,55 g de muestra y siguió la técnica descripta.
- Fósforo de ácido fítico[72]. Se utilizaron 4,5 g de cascarilla que se trataron de la misma manera que las harinas integrales. El resultado obtenido fue menor que 0,005%.

- Calcio (A.O.A.C. Official Method 13.014, 13.006, 13.013, 1965) Se utilizaron 1,33 g de muestra para esta determinación obteniendo un resultado marcadamente alto con respecto a las harinas integrales de producción nacional.
- Actividad ureásica (A.O.C.S. Tentative Method Ba 9-58) Se procedió en forma similar que con las harinas, utilizando 0,200 (± 0,001)g de muestra.
- Actividad antitríptica[50,51]. Se partió de 1,0 g de muestra y siguió la técnica descripta, variando en la dilución realizada para obtener el % de inhibición adecuado. En este caso la dilución necesaria fue 1:25.

2.- Sobre el contenido lipídico.

a) Lípidos extraídos por hexano.

320 g de cascarilla industrial se agotaron por hexano en equipo Soxhlet (24 horas de extracción, seguido de remolido y reextracción por 24 horas más). La cascarilla así agotada se aireó, liberó del solvente (45º, vacío) y envasó en recipientes herméticos.

Se obtuvieron 2,05 g de lípidos que representaron el 0,71% de la cáscara (b.s.)(Tabla 14).

Estos lípidos se resolvieron en insaponificable y ácidos totales, mediante las técnicas señaladas para las harinas integrales, obteniendo 0,40 g de insaponificable y 1,43 g de ácidos totales (19,4 y 68,8% de lípidos respectivamente - Tabla 14).

Los ácidos totales libres de insaponificable se hirvieron a reflujo (2 horas) con 10 ml de CH_3OH anhidro conteniendo 1,5% en peso de SO_4H_2 como talizador[76]. Se aislaron los ésteres metílicos formados y se estudió su composición acídica por CGL figurando los datos correspondientes en la Tabla 15.

b) Lípidos extraídos por mezcla ternaria $Cl_3CH:CH_3OH:H_2O$[55,62,64].

300 g de la cascarilla agotada por hexano se extrajeron 2 veces (2,5 l cada vez) con mezcla ternaria, realizando 2 lavados con (200 ml cada uno) la mezcla citada. Se separó la capa clorofórmica por agregado de 1,1 l de solución de ClK al 0,88%, obteniendo 1265 ml que contenían 1,84 g de lípidos.

Se resolvieron en insaponificable y ácidos totales obteniendo 1,04 g de ácidos totales y 0,26 g de insaponificable. (56,5 y 14,1% de lípidos respectivamente).(Tabla 14).

Los ácidos totales libres se insaponificable se hirvieron a reflujo con 25 ml de CH_3OH anhidro conteniendo 1,5% en peso de SO_4H_2 como catalizador. Los ésteres metílicos se evaluaron en su composición acídica por CGL según se describió para las harinas. Los resultados obtenidos pueden verse en la Tabla 15.

c) Lípidos retenidos[65].

38 g de cascarilla agotada por hexano y por mezcla ternaria se hirvieron a reflujo durante 1 hora con 400 ml de solución de KOH al 6% en etanol 96% libre de aldehídos. Se enfrió, acidificó con SO_4H_2 (1:1 v/v, placa de toque), centrifugó por 20 minutos a 2600 rpm, levó dos veces con 30 ml de etanol 96% cada vez y siguió la técnica descripta, obteniendo 0,051 g de ácidos totales (55,76% lípidos) y 0,041 g de insaponificable (44,2% de lípidos).

Se obtuvieron los ésteres metílicos de los ácidos totales y evaluaron por CGL en su composición acídica. Pueden verse los resultados en la Tabla 15.L Figura 11 representa el cromatograma de estos ésteres metílicos.

d) Fracción de esteroles.

En los insaponificables pertenecientes a los lípidos extraídos por hexano y a los extraídos por mezcla ternaria se evaluaron los esteroles preci-

pitándolos como digitónidos[59].

El insaponificable de los lípidos extraídos por hexano, (0,4 g) se llevó a 100 ml con etanol anhidro en matraz aforado, se tomaron 10 ml para precipitar con digitonina obteniendo 40 mg de digitónidos que representaron como esteroles libres un 50,3% del insaponificable.

El insaponificable correspondiente a los lípidos extraídos por mezcla ternaria, 0,26 g, se llevó con etanol anhidro a 50 ml en matraz aforado; se tomaron 10 ml y precipitaron los digitónidos obteniendo 42 mg de los mismos, lo que representó como esteroles libres un 41% del insaponificable.

Posteriormente, para separar los esteroles se sembraron en placa delgada de Silicagel G 60 mg del insaponificable de los lípidos extraídos por hexano, 52 mg del insaponificable de los lípidos extraídos por mezcla ternaria y 40 mg del insaponificable de los lípidos retenidos, previamente disueltos en éter etílico-alcohol etílico anhidro (1:1 v/v).

Se siguió la técnica descripta por Fedeli y col.[60], los respados obtenidos se eluyeron con éter etílico y se determinó la composición en esteroles. En los tres casos se encontraron los mismos esteroles: colesterol, campesterol, sitosterol y stigmasterol. El cromatograma correspondiente a los esteroles de los lípidos extraídos por hexano está representado en la Figura 12, registrándose los siguientes valores de Tr (expresados en cm a partir del comienzo del primer pico del solvente: colesterol 19,50, campesterol 25,10, stigmasterol 27,00, sitosterol 31,2, correspondientes a los siguientes valores de Tr/Tr colesterol: colesterol 1,00, campesterol 1,29, sitgmasterol 1,38, sitosterol 1,60.

Por evaluación de las áreas se determinó la composición en esteroles individuales de los esteroles totales con los resultados que figuran en la Tabla 16.

- IV -

- CONCLUSIONES -

- CONCLUSIONES -

El objetivo principal de este trabajo ha sido el estudio exhaustivo de composición química de las harinas integrales de extracción (hexano técnico) de semilla de 49 variedades de soja de producción nacional (Estación Experimental Marcos Juárez, Córdoba, INTA) correspondientes a cuatro ciclos de evolución: corto, corto a intermedio, intermedio e intermedio a largo.

A modo de Introducción se presenta en primer lugar un informe sobre el origen y las perspectivas futuras de la soja tanto en nuestro país como en el resto del mundo.

Esta Introducción informa, además, valores de composición química de semilla entera y de semilla decorticada, de composiciones en aminoácidos de las proteínas y sistemas de procesado industrial de la semilla de soja, según surge de la literatura.

Se incluye un capítulo actualizado sobre la presencia de factores antinutricionales, poniendo énfasis en la actividad de inhibidor de tripsina.

El último capítulo de esta Introducción se refiere a los diversos usos que se da a la soja en la industria de la alimentación humana.

La experimentación llevada a cabo se refirió al estudio de las harinas integrales de extracción (hexano) en su composición química general, factores antinutricionales, componentes menores y un estudio exhaustivo de los lípidos presentes.

Las conclusiones logradas son las siguientes:

1)- Que presentaron tenores de contenido acuoso en el ámbito de 7,58-15,96% con una concentración mayor de valores entre 8 y 11%, cifras ligeramente superiores a las señaladas en el Código Alimentario Argentino (9%).

Los contenidos en materias minerales (expresadas como cenizas, sobre base

seca) oscilaron entre 5,53 y 9,90% con mayor concentración de valores entre 7,40 y 8,50%.

2)- Los componentes de mayor significación en estas harinas, las proteínas (N x 6,25 en base seca), oscilaron entre 47,38 y 55,31%, con un valor promedio de 51,44%, ligeramente inferior al mínimo indicado en el Código Alimentario Argentino (55% sobre base seca). El mínimo valor se registró para la harina de la variedad Hill (47,38%) mientras que la cifra más elevada se observó en harina de la variedad Bellati 263 (55,31%).

3)- Las concentraciones de fibra cruda oscilaron entre un mínimo del 5,87% (var. Mansoy 8) y un máximo de 6,84% (var. Dare), con un valor promedio de 6,32%.

4)- Los hidratos de carbono de estas harinas se evaluaron como porcentajes de azúcares reductores (0,13-0,54% expresados en glucosa); azúcares invertibles (5,14-8,26% expressdos en sacarosa) e hidratos de carbono sacarificables (11,96-17,64% expresados en almidón).

La investigación de azúcares componentes reveló para las harinas de las variedades Biemville y Hill la presencia de glucosa, fructuosa, galactosa, sacarosa, rafinosa y un componente no identificado presumiblemente staquiosa, oligosacárido éste del que no se poseía patrón.

5)- Se determinaron los valores de fósforo total, fósforo de ácido fítico, Calcio, la relación fósforo total/Calcio y la relación porcentual fósforo de ácido fítico/fósforo total.

Los valores obtenidos para fósforo total fueron poco variables oscilando entre 0,73 y 0,86%. Los de fósforo de ácido fítico entre 0,16 y 0,20% mientras que los valores de la relación Fósforo de ácido fítico % Fósforo total oscilaron entre 20,0 y 27,4.

Las concentraciones de Calcio variaron entre 273 y 409 mg % g (en base seca) observando un valor medio de 338. Las relaciones Ca/P oscilaron entre 0,35 y 0,52, es decir que por cada g de fósforo se observó entre 0,35 y 0,52 g de calcio, relación que concuerda con lo señalado en literatura.

6)- Para lisina disponible, se encontraron valores que, expresados en g de lisina/16 g de N, oscilaron entre 5,53 y 6,61 con una mayor concentración de cifras entre 5,9 y 6,5 y un valor medio de 6,17. De 19 variedades analizadas practicamente 14 contenían más de 6,0 g de lisina/16 g de N, destacando que los valores más bajos correspondieron a las variedades Cajeme y Dare. Sin embargo estos valores son más altos que el valor 5,50 del patrón de referencia FAO 1973.

7)- Se evaluó la actividad antitríptica en 14 harinas integrales, procedentes de los cuatro ciclos de evolución. Los valores obtenidos mostraron gran variabilidad y oscilaron entre 84,0 y 216,8 UTI/mg proteína.
Paralelamente a estas determinaciones se evaluó la actividad ureásica, obteniendo valores practicamente constantes (mínimo 1,97, máximo 2,11 unidades de pH). El Código Alimentario no fija valores de actividad antitríptica, pero sí de actividad ureásica, estableciendo un máximo de 0,30 para harinas tostadas.

8)- Las harinas integrales de extracción (hexano) obtenidas se agotaron en frío con mezcla ternaria (Cl_3CH:CH_3OH:H_2O). Se obtuvieron entre 1,66 y 2,88 g de lípidos % de harina (base seca) con una mayor concentración de valores entre 2,0 y 2,3%. Los productos lipídicos obtenidos fueron separados en ácidos totales e insaponificable obteniendo entre 20,6-54,9 y 16,7-34,7% respectivamente.

9)- Se evaluaron los contenidos en Fósforo lipídico de los lípidos anteriores con valores entre 1,45 y 2,63%, con mayor concentración de cifras entre 2,0 y 2,4%. Utilizando el factor de transformación para fosfolípidos de soja 31,7, se estimó el contenido en fosfolípidos de esos lípidos entre 46,0 y 91,0% de los mismos.

10)- Las composiciones acídicas de los lípidos extraídos por mezcla ternaria presentaron como componentes mayores a los ácidos palmítico (24,4-32,5), oleico (9,4-17,8), y linoléico (43,2-52,9) y como componentes menores a los ácidos esteárico (3,1-5,1), linolénico (3,5-5,4), palmitoléico (0,7-1,4), laurico (vest-0,1), mirístico (0,1-0,3), hexadecenoico (0,7-1,4), heptadecanoico (vest-0,2), heptadecenoico (vest-1,0) y tridecanoico (vest)

11)- El contenido en esteroles totales (digitonina) de una mezcla de los insaponificables de los lípidos extraídos por mezcla ternaria fue de 161 mg % g de lípidos, cifra sustancialmente menor a las registradas para los aceites crudos de las mismas variedades consideradas (387-507 mg % g). La fracción de esteroles totales (previamente separada del insaponificable) se examinó por CGL observando los siguientes componentes en orden creciente de concentración (% de esteroles totales): Colesterol (0,5), Campesterol (10,5), Stigmasterol (12,6) y Sitosterol (76,4).

12)- Los lípidos extraídos por mezcla ternaria correspondientes a las variedades Beason y Mineira (mayor y menor contenido en fósforo lipídico respectivamente) se fraccionaron por ácido silícico en capa delgada, resolviéndose en colinafosfolípidos (CFL), lípidos neutros (LN), etanolaminafosfolípidos (EFL), presuntivamente glicopídicos y lisofosfolípidos. Se estudiaron las composiciones acídicas de las fracciones CFL, LN y EFL operando sobre los ésteres metílicos de los ácidos totales (libres de

insaponificable) de las mismas.

A partir del insaponificable mezcla de los LN, CFL y EFL se obtuvieron presuntos dimetilacetales y se evidenció la presencia de lípidos aldehidogénicos a través de los ensayos de coloración con el reactivo Fucsina-SO_2. El examen CGL de los presuntos dimetilacetales mostró un cromatograma complejo con un gran número de componentes en bajas concentraciones, atribuibles a dimetilacetales en razón del proceso analítico operado.

13)- Se evaluaron los lípidos retenidos en harinas integrales provenientes de 10 variedades de poroto de soja, obteniendo valores de ácidos totales entre 0,04 y 0,27% de harina e insaponificable entre 0,084 y 0,19% de harina.

Las composiciones acídicas de los lípidos retenidos se examinaron por CGL, con resultados variables entre sí (según la variedad) pero, en general, no difiriendo sensiblemente de los valores para lípidos extraídos por mezcla ternaria; lo que en cierto modo se confirma al observar las cifras calculadas para índice de yodo de ácidos totales en ambas fracciones lipídicas (83,1-117,4 para los lípidos retenidos y 105-119,5 para los lípidos extraídos por mezcla ternaria).

14)- Operando sobre la mezcla de los insaponificables correspondientes a los lípidos retenidos de las 10 muestras, se realizó el fraccionamiento en placa delgada de Sílicagel G no logrando evidenciar esteroles; sin embargo, el raspado que correspondería a la zona de esteroles eluído y examinado por CGL, no reveló pico alguno. Se concluye, por lo tanto, ausencia de esteroles en la fracción de lípidos retenidos.

Como aspecto complementario de este trabajo se encaró el estudio de composición exhaustiva de una partida de cascarilla industrial de poroto de soja (Brasil). Ello, en razón de que es cada día mayor el interés por utilizar el poroto de soja hacia la elaboración de alimentos para consumo humano. Esta tendencia obliga a la obtención de harinas con el menor contenido posible de fibra, objetivo que exige el descascarillado del poroto antes de la obtención de aceites crudos. Consecuentemente será cada vez mayor la producción de cascarilla, cuyo uso más indicado es el de integrar alimentos balanceados para ganado. De ahí el porqué de este estudio complementario. Se pudo establecer:

1)- que el tenor en contenido acuoso fue 8,92%, similar al de las harinas integrales de producción nacional y el de materias minerales (cenizas, base seca) 4,5%, menor al obtenido en nuestras harinas (5,5-9,9%; si bien se trata de cascarilla de origen brasilero).

2)- que el contenido en proteína cruda fue de 9,45% dato superior al registrado en literatura (7%).

Deben destacarse los altos tenores en fibra cruda (41,8%) y en hidratos de carbono sacarificables (24,8%). En cambio fue bajo en contenido en azúcares reductores (0,4%) al igual que en las harinas; mientras que el contenido en azúcares invertibles es muy inferior al de éstas últimas (1%).

3)- que el valor de Fósforo total (0,026%) y de Fósforo de ácido fítico (menor de 0,005%) fueron ambos notoriamente inferiores a los observados en las harinas. Por el contrario, el contenido en Calcio (598 mg % g) fue netamente superior al encontrado en las harinas de producción nacional.

4)- que dado el interés que revisten, se determinaron los valores de actividad antitríptica (1,2 UTI/mg) y actividad ureásica (0,15 unidades de pH).

Se dispuso, además, de cascarilla de poroto de soja obtenida manualmente y se analizó en estos aspectos, obteniendo valores de actividad ureásica de 0,35 y de actividad antitríptica de 2,15. También se logró una partida de cascarilla procedente de Salta que mostró actividad ureásica (1,4) y antitríptica (3,63). Estas son despreciables y no señalan riesgos para la elaboración de alimentos balanceados en base a cascarilla no sometida a procesos térmicos.

5)- que los contenidos en lípidos extraídos por hexano (0,71% de cascarilla, base seca) y por mezcla ternaria (0,66% de cascarilla, base seca) son similares entre si. Las composiciones acídicas de estas dos fracciones, que se determinaron por CGL, fueron significativamente diferente a las encontradas para los aceites crudos y para los lípidos extraídos por mezcla ternaria y los lípidos retenidos en las harinas de extracción. Al igual que con las harinas, se aislaron los lípidos retenidos (0,24% de la cascarilla, base seca). Su composición acídica resultó diferente a la de los aceites crudos de extracción, fracciones de lípidos extraídos por mezcla ternaria y lípidos retenidos de las harinas.

6)- que operando sobre los respectivos insaponificables se procedió al fraccionamiento en capa delgada y aisló la fracción de esteroles de los lípidos extraídos por hexano, por mezcla ternaria y los lípidos retenidos que se estudiaron por CGL, presentando en los tres casos los mismos componentes: Colesterol, Campesterol, Stigmasterol y Sitosterol. Es de destacar el elevado contenido en sitosterol registrado en las tres fracciones de lípidos, valores que cobran mayor interés si se tiene presente que los contenidos en esteroles de lípidos extraídos por hexano y por mezcla ter-

naria representaron el 9,75 y 5,80% respectivamente. Los contenidos en esteroles % lípidos retenidos no pudieron ser determinados.

TABLAS Y FIGURAS

Biblioteca Digital
F C E N - U B A

BIBLIOTECA CENTRAL LUIS F LELOIR
BIBLIOTECA CENTRAL LELOIR
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES UBA

Tesis de Posgrado

Página no digitalizada

Tipo de material: Tabla

Alto: 20

Ancho: 100

Descripción:

Esta página no pudo ser digitalizada por tener características especiales. La misma puede ser vista en papel concurriendo en persona a la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir.

This page could not be scanned because it did not fit in the scanner. You can see a paper copy in person in the Central Library Dr. Luis Federico Leloir.

EXACTAS UBA
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

UBA
Universidad de Buenos Aires

Dirección: Biblioteca Central Dr. Luis F. Leloir, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires.
Intendente Güiraldes 2160 - C1428EGA - Tel. (++54 +11) 4789-9293

Contacto: digital@bl.fcen.uba.ar

Biblioteca Digital
F C E N - U B A

BIBLIOTECA CENTRAL LUIS F LELOIR
BIBLIOTECA CENTRAL LELOIR
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES UBA

Tesis de Posgrado

Página no digitalizada

Tipo de material: Tabla

Alto: 28

Ancho: 31

Descripción:

Esta página no pudo ser digitalizada por tener características especiales. La misma puede ser vista en papel concurriendo en persona a la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir.

This page could not be scanned because it did not fit in the scanner. You can see a paper copy in person in the Central Library Dr. Luis Federico Leloir.

EXACTAS UBA
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

UBA
Universidad de Buenos Aires

Dirección: Biblioteca Central Dr. Luis F. Leloir, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires.
Intendente Güiraldes 2160 - C1428EGA - Tel. (++54 +11) 4789-9293

Contacto: digital@bl.fcen.uba.ar

Biblioteca Digital
F C E N - U B A

BIBLIOTECA CENTRAL LUIS F LELOIR
BIBLIOTECA CENTRAL LELOIR
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES UBA

Tesis de Posgrado

Página no digitalizada

Tipo de material: Tabla

Alto: 20

Ancho: 93

Descripción:

Esta página no pudo ser digitalizada por tener características especiales. La misma puede ser vista en papel concurriendo en persona a la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir.

This page could not be scanned because it did not fit in the scanner. You can see a paper copy in person in the Central Library Dr. Luis Federico Leloir.

EXACTAS UBA
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

UBA
Universidad de Buenos Aires

Dirección: Biblioteca Central Dr. Luis F. Leloir, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires. Intendente Güiraldes 2160 - C1428EGA - Tel. (++54 +11) 4789-9293

Contacto: digital@bl.fcen.uba.ar

Biblioteca Digital
F C E N - U B A

BIBLIOTECA CENTRAL LUIS F LELOIR
BIBLIOTECA CENTRAL LELOIR
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES UBA

Tesis de Posgrado

Página no digitalizada

Tipo de material: Tabla

Alto: 20

Ancho: 38

Descripción:

Esta página no pudo ser digitalizada por tener características especiales. La misma puede ser vista en papel concurriendo en persona a la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir.

This page could not be scanned because it did not fit in the scanner. You can see a paper copy in person in the Central Library Dr. Luis Federico Leloir.

EXACTAS UBA
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

UBA
Universidad de Buenos Aires

Dirección: Biblioteca Central Dr. Luis F. Leloir, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires.
Intendente Güiraldes 2160 - C1428EGA - Tel. (++54 +11) 4789-9293

Contacto: digital@bl.fcen.uba.ar

Tabla 3 - Harina integral de extracción (hexano) de semilla de soja de Producción Nacional

Composición en hidratos de carbono -(datos s.b.s)

	Wayne	Re 450	Prata 292 (17)	Hill	Dare	Mansoy 8	Cajeme	Mac Nair 600	Biembille	Cobb	Máximo	Mínimo	Promedio
Azúcares reductores % (en glucosa)	0,51	0,21	0,35	0,34	0,54	0,13	0,38	0,29	0,35	0,36	0,54	0,13	0,35
Azúcares invertibles % (en sacarosa)	7,53	5,14	6,37	7,90	6,53	6,40	7,53	7,72	7,27	8,26	8,26	5,14	7,06
Hidratos de carbono sacarificables % (en almidón)	12,93	14,95	17,64	14,14	15,36	11,96	12,20	15,21	13,35	15,34	17,64	11,96	14,31
Totales	20,97	20,30	24,36	22,38	22,43	18,49	20,11	23,22	20,97	23,96	24,36	18,49	21,72

Tabla 6 - Harina integral de extracción (hexano) de semilla de soja de Producción Nacional

Valores de composición y características de Lípidos extraídos por mezcla ternaria Cl_3CH:CH_3OH:H_2O - (datos s.b.s)-

Variedad	Lípidos	Acidos totales		Insaponificable		Indice Yodo	Fósforo lipídico		Fosfolípidos(*)	
	%	% Harina	% Lípidos	% Harina	% Lípidos	Insap.	% Harina	% Lípidos	% Harina	% Lípidos
Bellati 4P	2,11	0,74	35,19	0,37	17,30	67,80	0,051	2,41	1,60	76,40
SRF 307	2,06	0,92	44,50	0,59	28,41	81,00	0,050	2,44	1,59	77,35
Beeson	1,98	1,08	54,66	0,39	19,75	71,24	0,057	2,87	1,81	90,98
Re 450	1,86	0,38	20,63	0,39	21,05	85,30	0,044	2,41	1,40	76,40
Bellati 263	1,66	0,60	31,63	0,57	34,70	81,56	0,038	2,30	1,20	72,91
Kent	1,94	1,06	54,87	0,34	17,69	71,24	0,042	2,18	1,33	69,10
Paraguaya	2,41	0,93	38,53	0,43	17,96	83,63	0,063	2,63	1,99	83,37
Forrest 52	2,27	0,85	37,40	0,62	27,30	86,50	0,052	2,29	1,65	72,59
Tracy	2,39	0,99	41,62	0,45	18,78	94,13	0,051	2,12	1,62	66,20
Biemville	2,17	0,81	37,50	0,54	24,64	93,38	0,046	2,13	1,46	67,52
Ranson	2,11	0,69	32,81	0,47	22,40	93,65	0,048	2,30	1,52	72,90
Mineira	2,68	1,32	49,35	0,45	16,68	73,74	0,039	1,45	1,24	45,97
Máximo	2,68	1,32	54,87	0,62	34,70	94,13	0,063	2,87	1,99	90,98
Mínimo	1,66	0,38	20,63	0,34	16,68	67,80	0,038	1,45	1,20	45,97

(*) Factor de conversión Fósforo lipídico a Fosfolípidos para soja[57] utilizado: 31,7

Tabla 7 - Harina integral de extracción (hexano) de semilla de soja de Producción Nacional.

Distribución de fosfolípidos totales de poroto de soja en aceite crudo de extracción y harina residual

Variedad	Aceite %(*) de poroto entero	Fósforo %(*) de aceite	Lípidos extraídos por mezcla ternaria % de harina	Fósforo % de Lípidos extraídos por mezcla ternaria	Fosfolípidos(**) en aceite de 100g de poroto	Fosfolípidos(**) en harina de 100g de poroto	Fosfolípidos(**) totales % de poroto entero
Bellati 4P	21,48	0,075	2,11	2,41	0,51	1,27	1,78
SRF 307	21,10	0,069	2,06	2,44	0,46	1,27	1,73
Beeson	21,86	0,072	1,98	2,87	0,50	1,40	1,90
Re 450	21,18	0,047	1,86	2,41	0,32	1,12	1,44
Bellati 263	21,71	0,057	1,66	2,30	0,38	0,95	1,33
Kent	21,98	0,051	1,94	2,18	0,35	1,05	1,40
Paraguaya	21,31	0,068	2,41	2,63	0,47	1,58	2,05
Forrest 52	18,50	0,061	2,27	2,29	0,35	1,33	1,68
Tracy	18,36	0,073	2,39	2,12	0,42	1,30	1,72
Biemville	20,39	0,064	2,17	2,13	0,41	1,17	1,58
Ranson	20,09	0,056	2,11	2,30	0,36	1,24	1,60
Mineira	18,34	0,056	2,68	1,45	0,32	1,01	1,33

(*) Scarmato G; Bertoni M.H.; Cattáneo P.; Comunicación Privada[45].

(**) Factor de conversión de P lipídico a Fosfolípidos para soja[57] utilizado: 31,7

Tabla 8 - Harina integral de extracción (hexano) de semilla de soja de Producción Nacional.

Composiciones acídicas de Lípidos extraídos por mezcla ternaria $Cl_3CH:CH_3OH:H_2O$ (% ácidos totales)

	Bellati 4P	SRF 307	Beeson	Re 450	Bellati 263	Kent	Paraguaya	Forrest 52	Tracy	Biemville	Ranson	Mineira	Máximo
12:0	0,1	0,05	0,03	0,2	vest	vest	vest	vest	0,03	vest	0,05	0,04	0,1
13:0	-	vest	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14:0	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,2	0,2	0,2	0,1	0,2	0,2	0,3
r-14:0	-	vest	vest	-	vest	-	vest	vest	-	vest	0,1	vest	0,1
14:1	-	vest	vest	-	vest	-	vest	vest	-	vest	-	vest	-
15:0	0,1	vest	0,1	0,1	vest	0,1	vest	vest	0,1	0,1	0,03	0,1	0,1
r-16:0	-	0,1	vest	-	vest	-	-	0,2	-	vest	0,1	vest	0,2
16:0	26,8	28,8	29,7	31,9	32,5	26,4	25,8	30,0	24,4	27,9	31,3	28,4	32,5
16:1	0,8	1,0	0,7	1,2	1,7	1,1	0,8	1,4	1,1	0,70	0,9	-	1,4
17:0	0,2	0,1	0,1	0,2	0,1	0,2	0,5	vest	0,1	0,1	0,2	0,05	0,2
17:1	vest	vest	vest	vest	vest	vest	-	vest	vest	vest	0,04	1,0	1,0
18:0	3,9	4,3	5,0	4,9	5,1	5,0	3,10	3,4	3,5	3,9	3,5	3,6	5,1
18:1	12,3	14,4	16,5	11,4	13,3	17,8	17,8	12,1	15,1	9,4	11,4	11,9	17,8
18:2	50,9	46,4	44,2	44,9	43,2	45,6	48,0	47,3	50,8	52,9	47,5	50,6	52,9
18:3	4,7	4,8	3,5	4,9	3,7	3,6	4,1	5,4	4,7	4,9	4,7	4,2	5,4
Indice yodo ac. tot. (calc)	116,8	111,0	105,1	106,1	102,0	109,5	114,9	112,6	119,5	118,3	109,9	114,7	119,5

Tabla 9 - Harina integral de extracción (hexano) de semilla de soja de Producción Nacional.

Composición en esteroles (% esteroles totales) del Insaponificable mezcla de los Lípidos extraídos por mezcla ternaria $Cl_3CH:CH_3OH:H_2O$

Esterol	Esteroles % esteroles totales	Tr/Tr col.
Colesterol	0,5	1,00
Campesterol	10,5	1,30
Stigmasterol	12,6	1,42
Sitosterol	76,4	1,62

Tabla 10 - Harina integral de extracción (hexano) de semilla de soja de Producción Nacional.

Composiciones acídicas (% de ácidos totales) de las fracciones EFL, CFL y LN de los Lípidos extraídos por mezcla ternaria $Cl_3CH:CH_3OH:H_2O$ - var. Beeson.

	EFL	CFL	LN
?	0,7	0,8	0,5
12:0	2,5	5,2	1,3
13:0	0,6	1,2	0,3
r-14:0	0,5	1,4	0,2
14:0	5,6	8,4	4,4
14:1	2,0	1,8	1,7
r-15:0		0,5	
15:0	0,9	1,2	0,3
r-16:0	0,7	2,1	1,0
16:0	26,1	26,0	24,8
16:1	6,9	10,2	5,4
17:0	1,5	1,3	1,1
17:1	0,8	0,7	0,3
18:0	9,7	4,9	6,2
18:1	30,6	15,4	23,0
18:2	10,4	17,0	23,5
18:3	0,4	1,2	6,0
20:0	--	0,6	--
Indice de yodo ác. tot.(calc)	55,1	60,7	85,3

Tabla 11 - Harina integral de extracción (hexano) de semilla de Soja de Producción Nacional

Valores de Composición y características de Lípidos retenidos. (datos s.b.s.)

Variedad	Lípidos	Acidos totales		Insaponificable	
	%	% Harina	% Lípidos	% Harina	% Lípidos
SRF 307	0,27	0,11	40,86	0,16	59,14
Beeson	0,25	0,09	36,94	0,16	63,06
Bellati 263	0,43	0,05	11,60	0,38	88,40
Kent	0,34	0,15	44,90	0,19	55,10
Paraguaya	0,24	0,04	15,85	0,20	84,15
Forrest 52	0,63	0,06	8,77	0,57	91,23
Tracy	0,46	0,27	57,95	0,19	42,05
Biemville	0,29	0,05	16,40	0,24	83,60
Ranson	0,25	0,16	62,30	0,09	37,70
Mineira	0,25	0,17	66,97	0,084	33,03
Máximo	0,63	0,27	66,97	0,57	91,23
Mínimo	0,24	0,04	8,77	0,084	33,03

Tabla 12 - Harina integral de extracción (hexano) de semilla de soja de Producción Nacional.
Composiciones acídicas de Lípidos retenidos. (% ácidos totales).

	12:0	12:1	13:0	14:0	r-14:0	14:1	15:0	15:1	r-15:0	16:0	r-16:0	16:1	17:0	17:1	18:0	18:1	18:2	18:3	Indice yodo ác.tot.(calc)
SRF 307	0,1	-	-	0,3	vest	-	0,1	-	-	27,0	0,2	0,4	0,2	vest	4,6	21,2	41,0	5,0	107,2
Beeson	0,1	-	-	0,6	-	vest	0,2	0,1	-	27,9	vest	-	0,3	-	6,3	20,2	39,2	5,1	103,2
Bellati 263	0,1	-	0,1	1,2	vest	0,1	0,5	-	-	26,7	0,3	1,8	0,3	-	4,6	18,3	40,0	5,9	106,9
Kent	0,04	-	-	0,2	-	vest	0,1	-	vest	20,3	vest	-	0,1	-	2,7	27,5	44,7	4,3	117,4
Paraguaya	0,2	0,3	0,2	1,9	vest	0,2	0,8	-	-	34,8	-	2,7	0,9	0,1	5,2	19,1	30,0	3,0	83,1
Forrest 52	0,1	-	0,1	0,9	0,04	vest	0,5	-	-	25,2	0,3	1,0	0,2	vest	3,7	15,6	46,5	5,8	115,0
Tracy	0,1	-	-	0,6	-	vest	0,2	-	-	19,0	-	-	0,1	vest	4,9	34,0	37,5	3,6	108,3
Siemville	0,1	vest	0,1	2,0	0,1	vest	0,6	-	vest	34,5	vest	2,1	0,3	vest	4,0	17,2	35,0	4,0	91,8
Ranson	0,04	-	-	0,4	-	-	0,1	-	-	25,7	-	0,9	0,15	vest	5,8	22,2	39,6	5,0	106,2
Mineira	0,04	-	-	0,2	-	vest	0,1	vest	-	22,3	vest	-	0,1	vest	5,5	20,8	46,6	4,3	114,8
Máximo	0,2	0,3	0,2	2,0	0,1	0,2	0,8	0,1	-	34,8	0,3	2,7	0,9	0,1	6,3	34,0	46,6	5,9	117,4
Mínimo	0,04	vest	0,1	0,2	vest	vest	0,1	vest	-	19,0	vest	0,4	vest	vest	2,7	15,6	30,0	3,6	83,1

Tabla 13 - Cáscara Industrial de Poroto de Soja (Brasil)

Composición Química General (base seca)

Factores Antinutricionales

Humedad % (vacío 100º)	8,92
Cenizas % (500-550º)	4,52
Nitrógeno Total %	1,51
Proteína cruda % (N x 6,25)	9,45
Fósforo total %	0,026
Fósforo ác. fítico %	< 0,005
Calcio mg/100g	598
Fibra cruda %	41,80
Hidratos de carbono	
a) Reductores % (glucosa)	0,42
b) Invertibles % (sacarosa)	1,01
c) Sacarificables % (almidón)	24,80
Lípidos totales % (**)	1,61
Actividad ureásica (unidades de pH)	0,15
Actividad antitríptica TUI/mg cáscara (*)	1,18

(*) TUI: Unidades de Tripsina inhibidas

(**) Suma de aceite (hexano), lípidos extraídos por mezcla ternaria y lípidos retenidos

Tabla 14 - Cáscara industrial de poroto de soja (Brasil). Composición lipídica. Características.

	% Cáscara	Acidos totales		Insaponificable		Indice de
		% lípidos	% cáscara(*)	% cáscara(*)	% lípidos	Saponificación
Lípidos extraídos por hexano	0,71	68,82	0,49	0,14	19,36	169,0
Lípidos extraídos por mezcla ternaria	0,66	56,52	0,37	0,093	14,14	-----
Lípidos retenidos	0,24	55,76	0,13	0,11	44,24	-----

(*) Sobre base seca.

Tabla 15 - Cáscara industrial de poroto de soja (Brasil)

Lípidos - Composición en ácidos grasos (% acidos totales)

	Lípidos (*) extraídos por hexano	Lípidos extraídos por mezcla ternaria	Lípidos retenidos
12:0	0,1	0,2	0,1
14:0	0,5	0,5	0,7
15:0	-	0,8	0,8
15:1	-	0,2	0,02
16:0	21,1	39,4	37,0
16:1	1,0	0,8	1,3
17:0	0,3	1,8	1,7
17:1	0,1	0,7	0,1
18:0	6,3	10,7	9,8
18:1	23,5	24,2	22,2
18:2	35,7	5,3	16,5
18:3	9,2	14,5	9,2
20:1	0,3	0,4	vest.
22:0	0,4	0,4	0,5
Ind. yodo ác. tot. (calc.)	112,3	73,3	76,4

(*) Además 1,5 % de 15:0 + 15:1 + r-16:0.

En los tres casos vest. de 20:1

Tabla 16 - Cáscara industrial de poroto de soja (Brasil) - Lípidos.

Composición en esteroles (% de esteroles totales)

	Esteroles % Esteroles totales		
	Lípidos extraídos por hexano	Lípidos extraídos por mezcla ternaria	Lípidos retenidos
Colesterol	0,2	vest.	0,6
Campesterol	7,3	7,4	5,6
Stigmasterol	12,0	11,7	9,0
Sitosterol	80,4	80,9	84,8

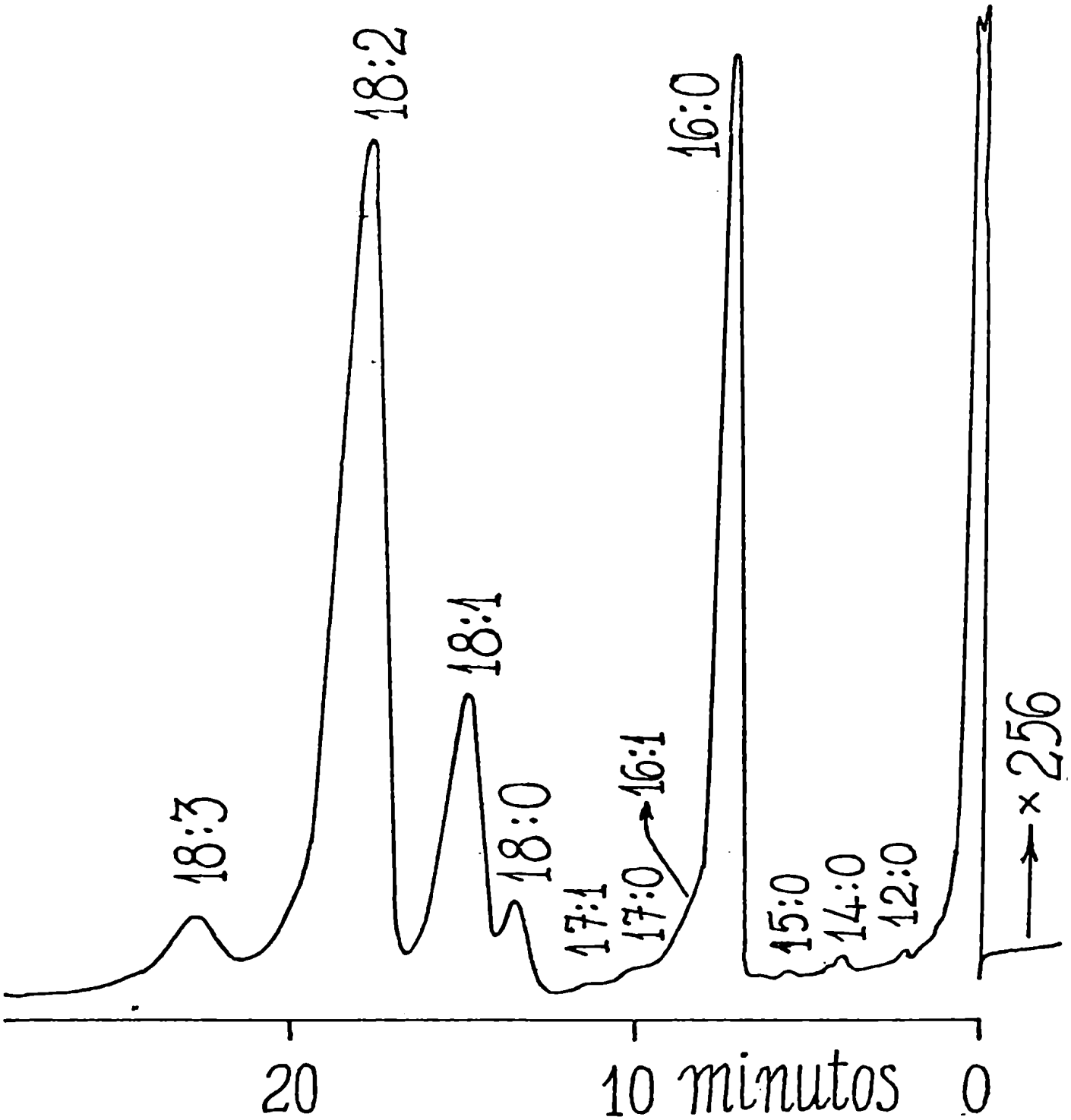


Figura 1.- Cromatografía gas-líquido de los ésteres metílicos de los ácidos totales de los lípidos extraídos por mezcla ternaria ($Cl_3CH:CH_3OH:H_2O$) operando sobre harina integral de la variedad TRACY.

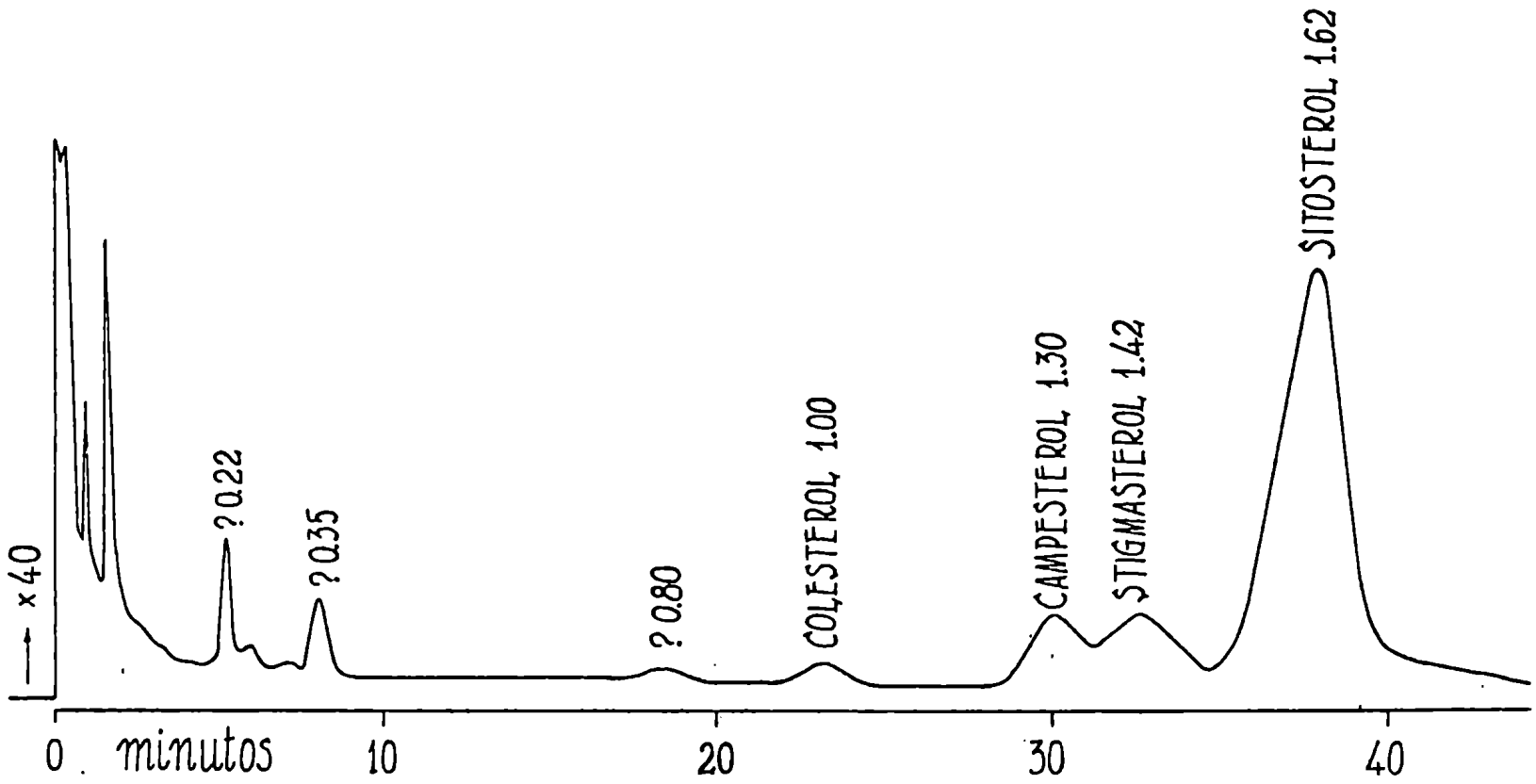


Figura 2.- Cromatografía gas-líquido de la fracción de esteroles de los lípidos extraídos por mezcla ternaria de la harina de 12 variedades (Los valores de Tr/Tr colesterol).

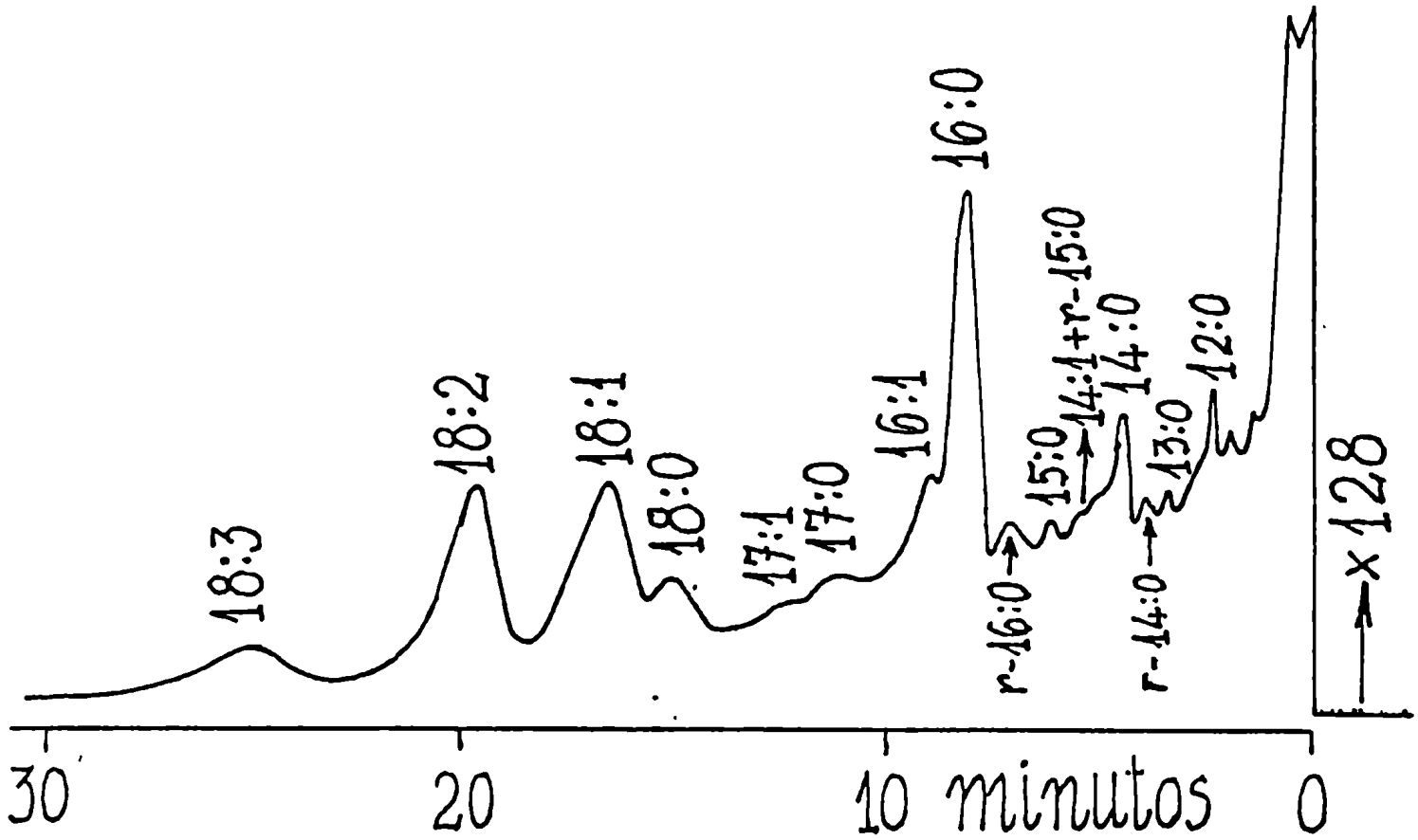


Figura 3.- Cromatografía gas-líquido de los esteres metílicos de los ácidos totales de la fracción de lípidos neutros (LN) del fraccionamiento de los lípidos extraídos por mezcla ternaria a partir de harina integral de soja de la variedad Beeson. (Libres de dimetilacetales).

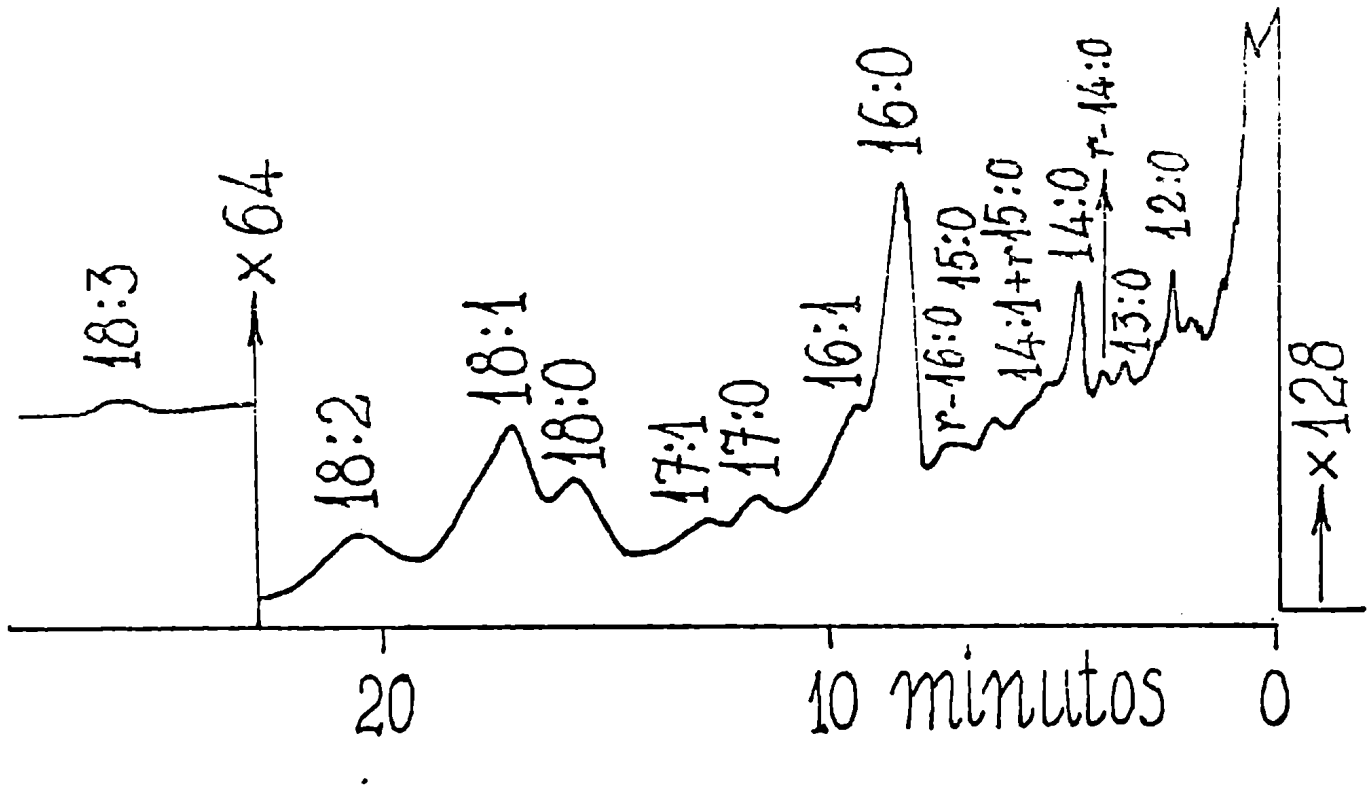


Figura 4.- Cromatografía gas-líquido de los esteres metílicos de los ácidos totales de etanolaminafosfolípidos (EFL) del fraccionamiento de los lípidos extraídos por mezcla ternaria a partir de harina integral de soja de la variedad Beeson. (Libres de dimetilacetales).

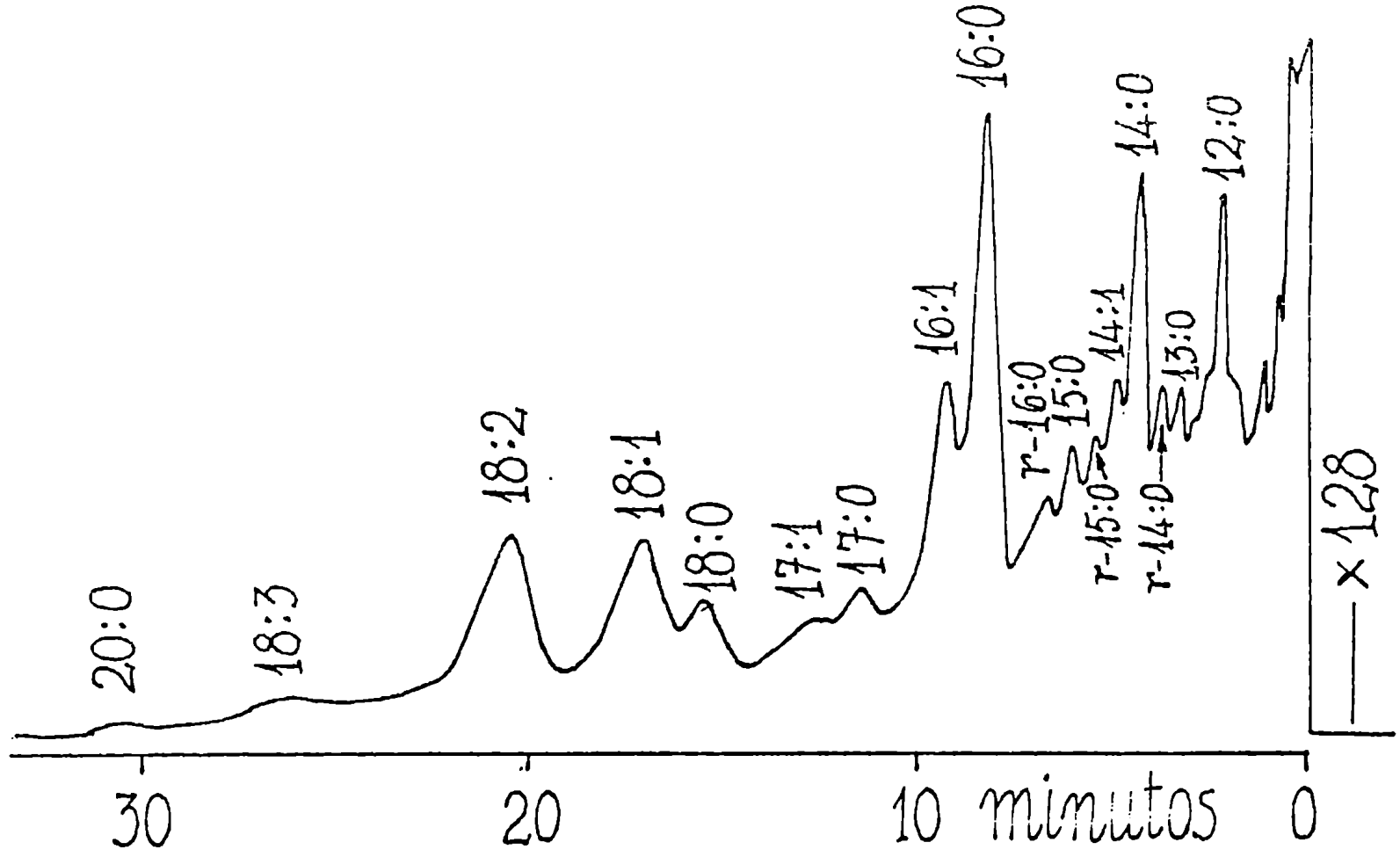


Figura 5.- Cromatografía gas-líquido de los ésteres metílicos de los ácidos totales de la fracción de Colinafosfolípidos (CFL) del fraccionamiento de lípidos extraídos por mezcla ternaria a partir de harina integral de soja de la variedad Beeson. (Libres de dimetilacetales).

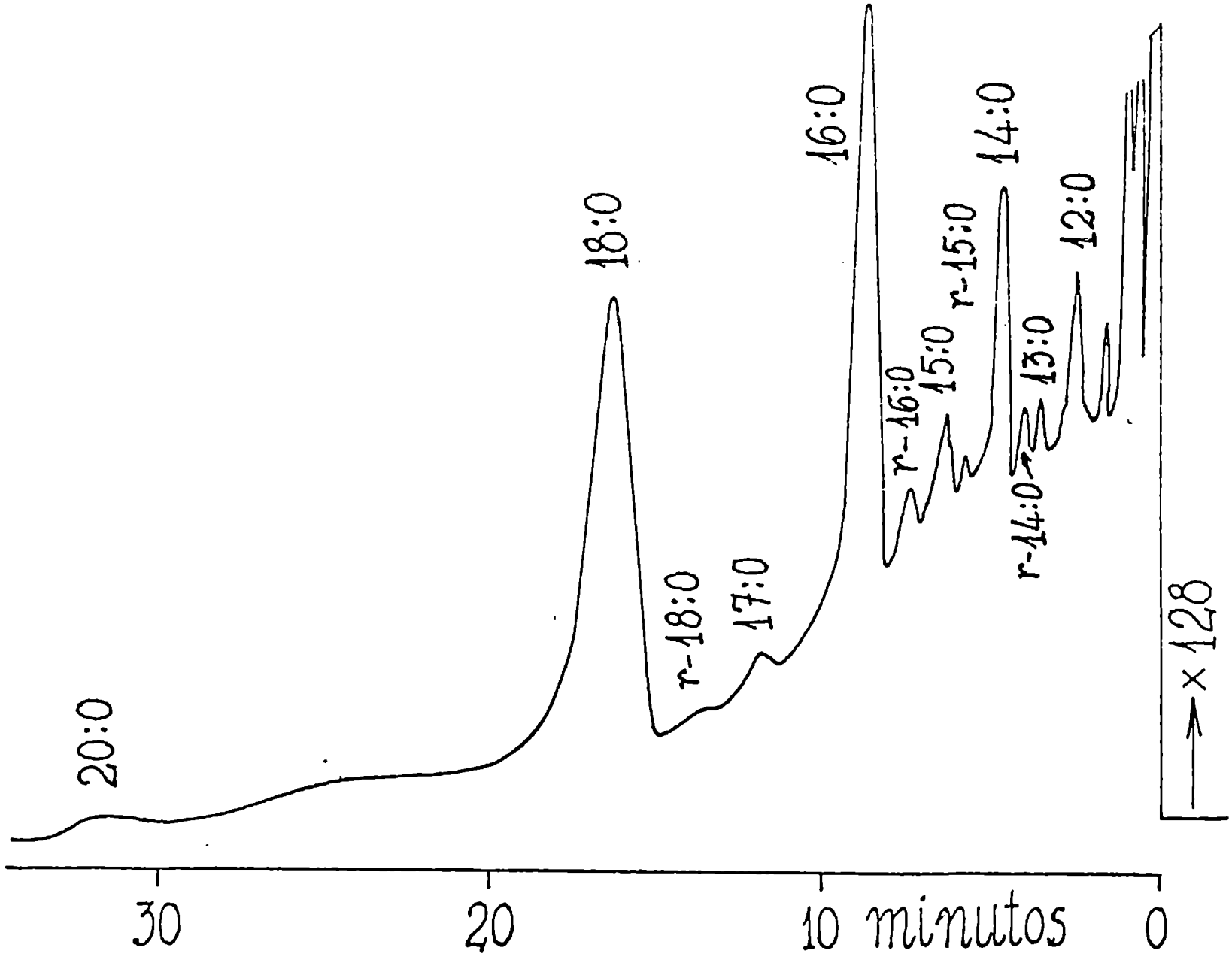


Figura 6.- Cromatografía gas-líquido de los esteres metílicos de los ácidos totales hidrogenados de la fracción colinafosfolipidos (CFL) del fraccionamiento de lípidos extraídos por mezcla ternaria a partir de harina integral de soja de la variedad Beeson.

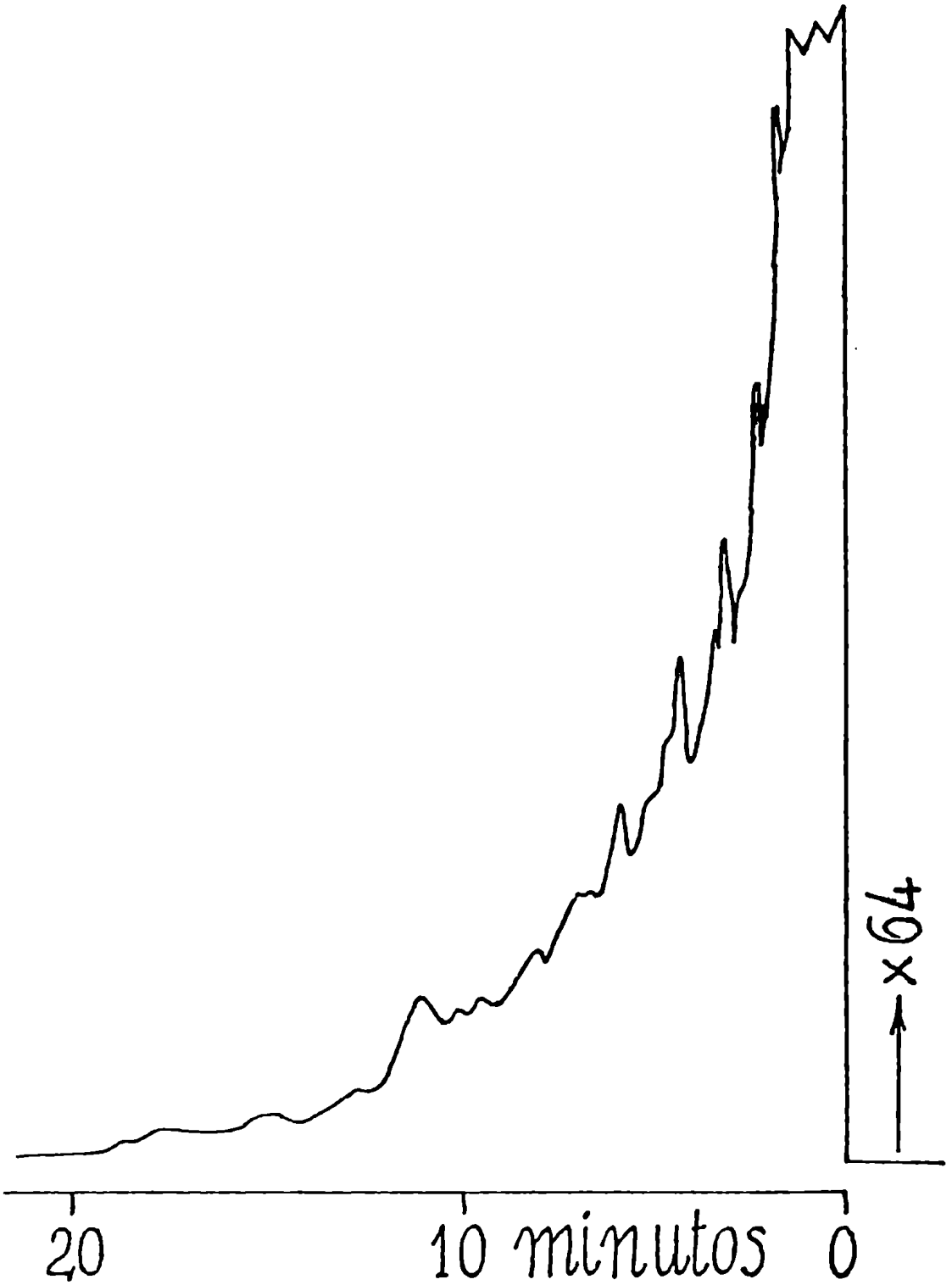


Figura 7.- Cromatografía gas-líquido de los dimetilacetales de las fracciones de LN + CFL + EFL de lípidos extraídos por mezcla ternaria a partir de harina integral de soja de la variedad Beeson.

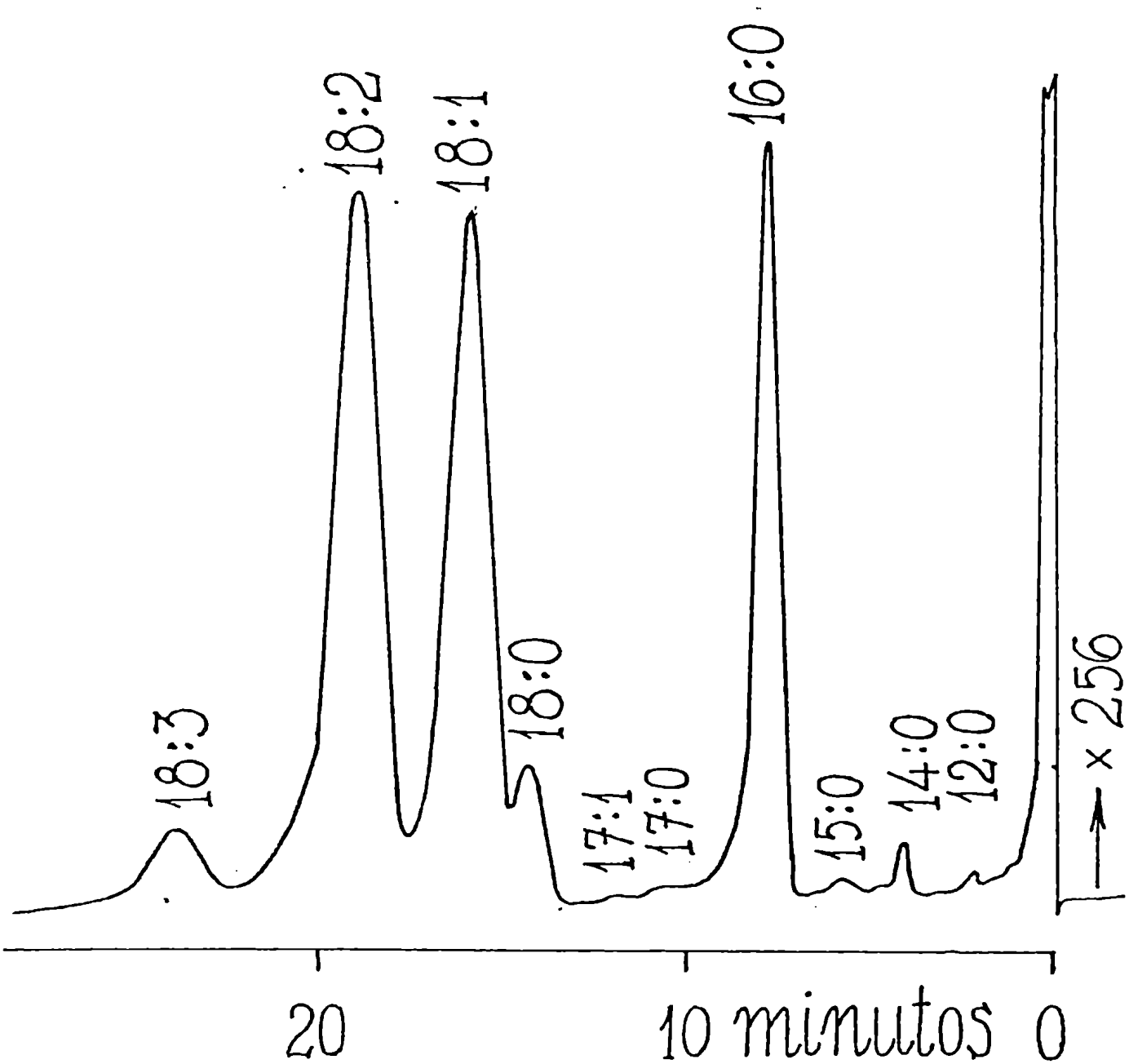


Figura 8.- Cromatografía gas-líquido de los ésteres metílicos de los ácidos totales de los lípidos retenidos correspondientes a harina integral de soja (variedad TRACY).

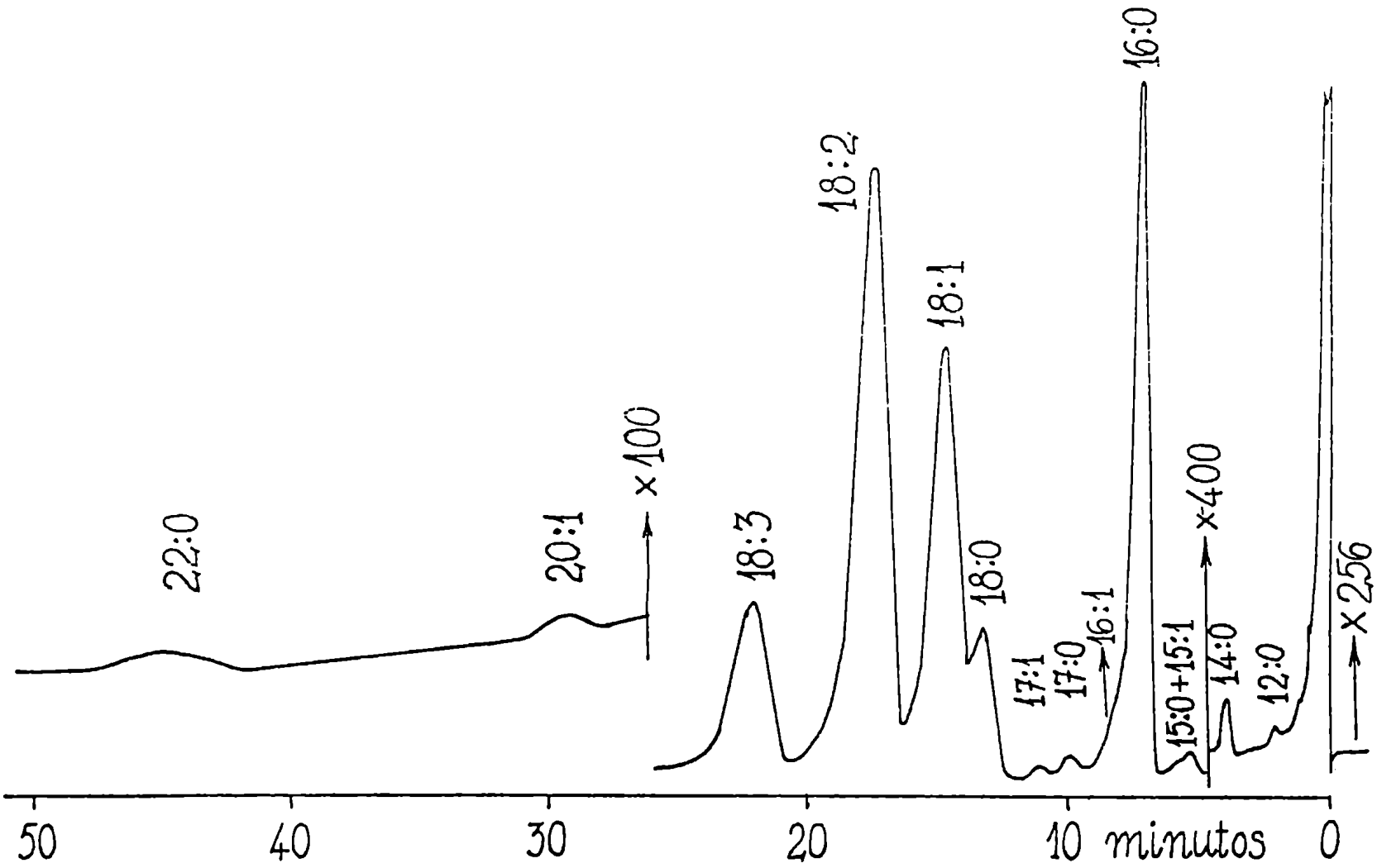


Figura 9.- Cromatografía gas-líquido de los ésteres metílicos de los ácidos totales de los lípidos extraídos por hexano correspondientes a la Cascarilla industrial de Poroto de soja (Brasil).

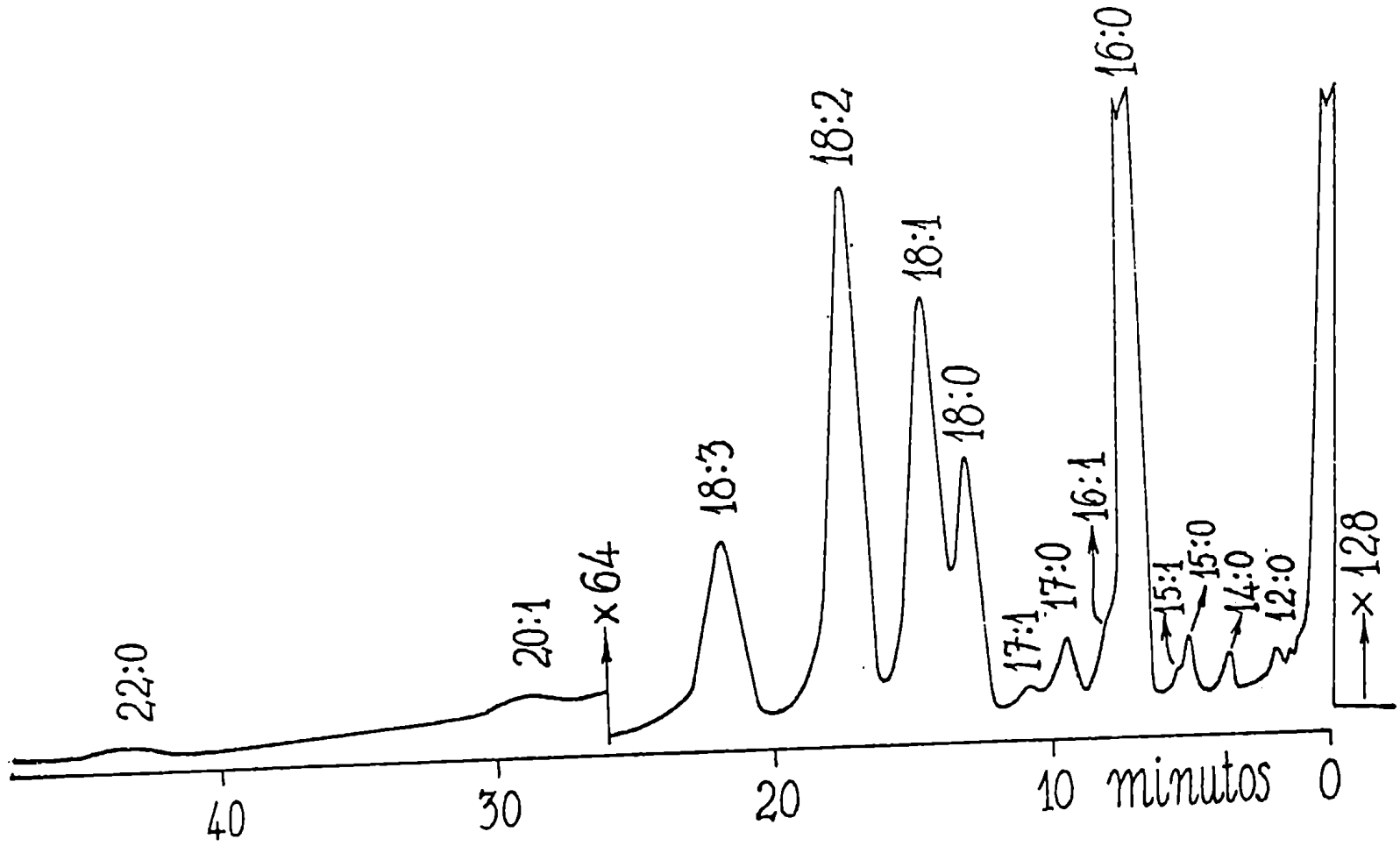


Figura 10.- Cromatografía gas-líquido de los ésteres metílicos de los ácidos totales de los lípidos extraídos por mezcla ternaria de la cascarilla industrial de Poroto de soja (Brasil).

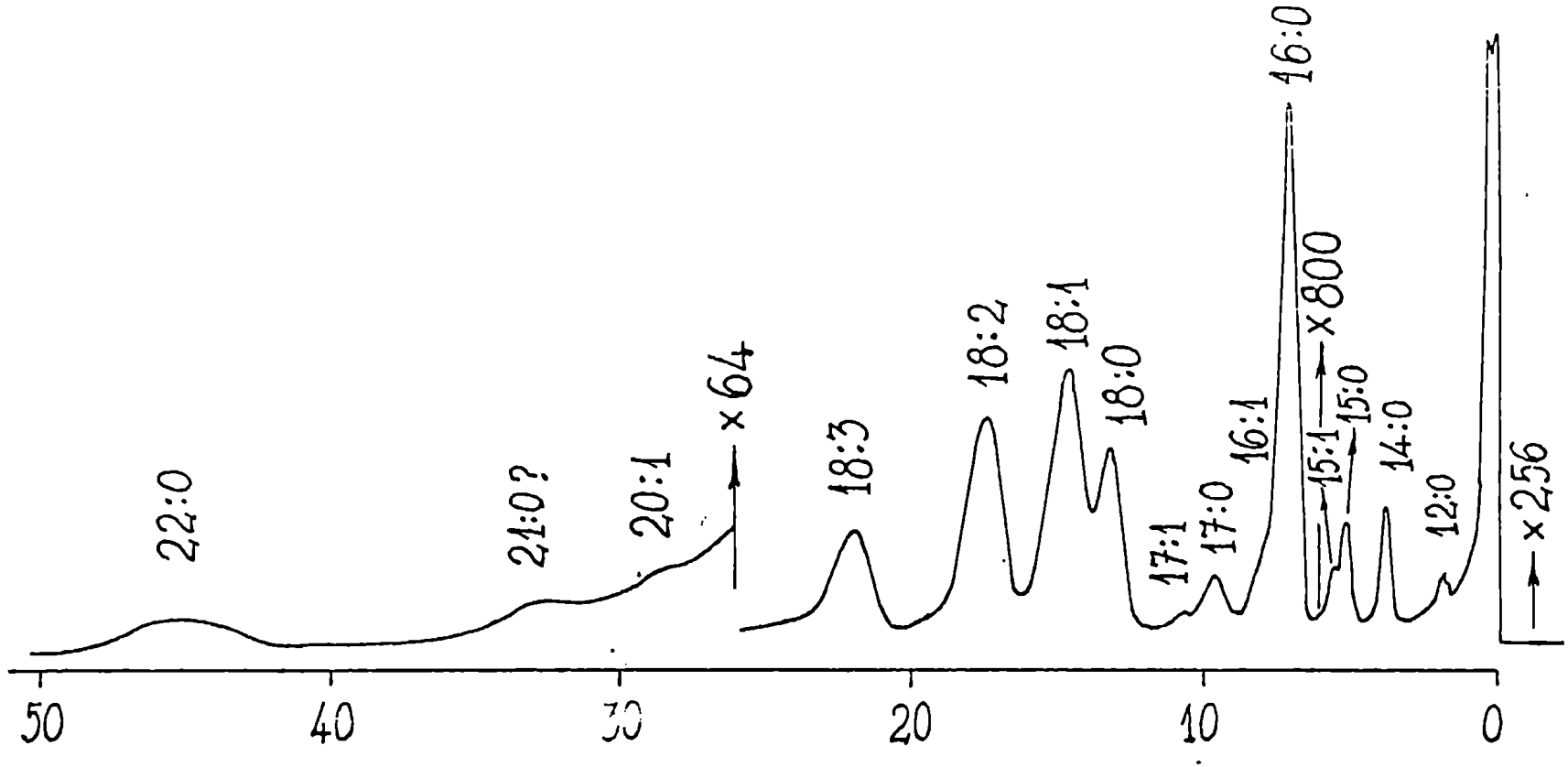


Figura 11.- Cromatografía gas-líquido de los ésteres metílicos de los ácidos totales de los lípidos retenidos correspondientes a la cascarilla industrial de Poroto de soja (Brasil).

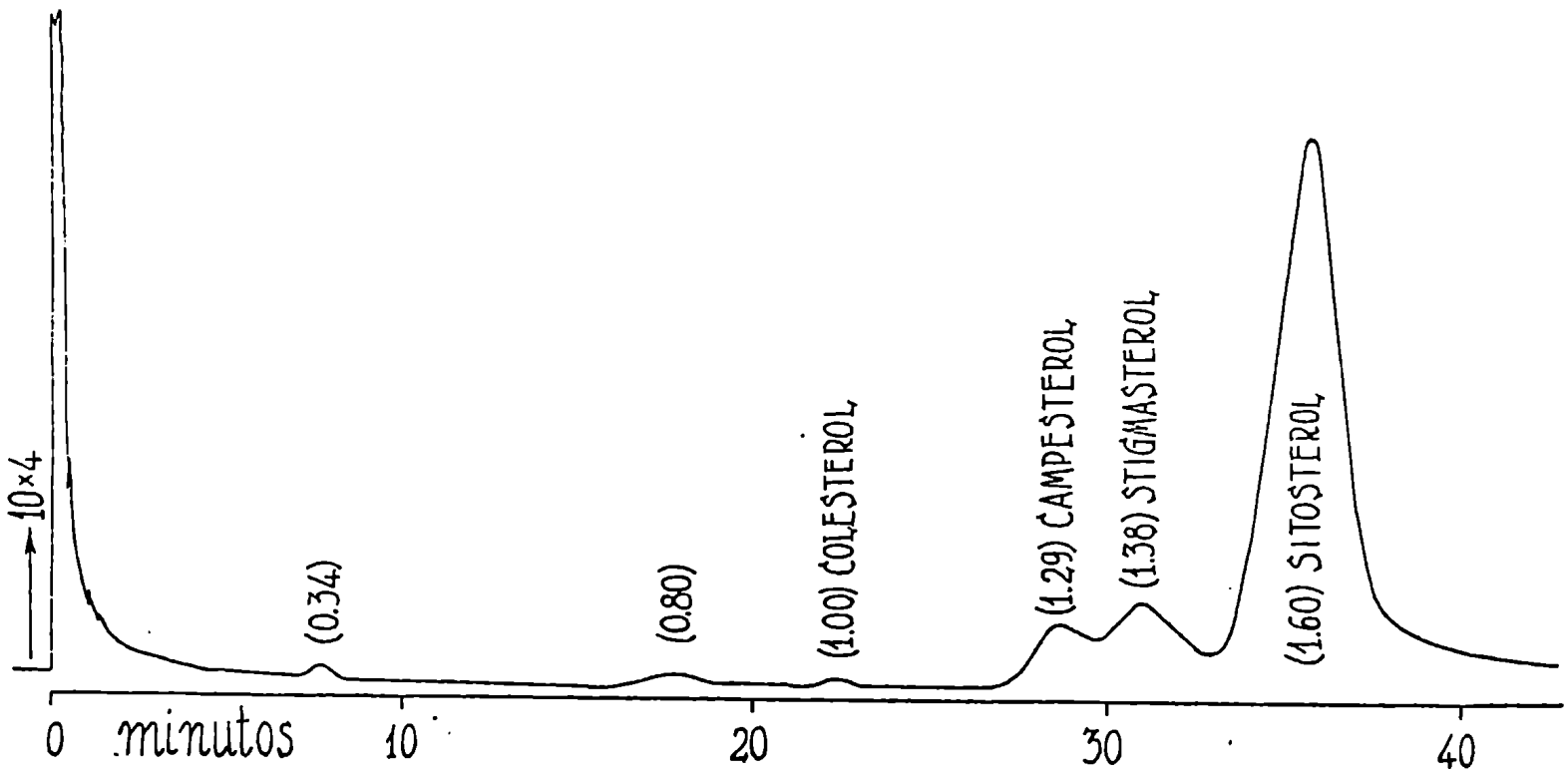


Figura 12.- Cromatografía gas-líquido de la fracción de esteroles correspondiente a los lípidos extraídos por hexano procedentes de la cascarilla industrial de poroto de soja (Brasil).

1. A. PIQUIN, L.A. PORZIO, "Cartilla al Productor", publ. por INDO S.A.C. 1973.

2. T. KOPSIC, V. LAURIC, "Propiedades de la Soja", Publ. U.N. del Sur.

3. C. REMUSSI, A. J. PASCALE, "La Soja" Ed. ACME, Bs.As., 1977. Pag. 3-8; 16; 20-27.

4. J. D. BASAIL, Publ. La Nación, (1977).

5. E. R. ZENI, Publ. La Nación, (1979).

6. A. LAMSANCHEZ, Soyanoticias, 100, 4, (1979).

7. "ANUARIO FAO DE COMERCIO", 31; 1978.

8. Informe Secretaría de Estado de Agricultura y Ganadería, 1977.

9. "ANUARIO FAO DE COMERCIO, 31, 1978.

10. C. V. PIPPER, W. J. MORSE, "The Soybean", Peter Smith, New York 1943- pág. 187.

11. J. L. CARTER, T. H. HOPPER, U.S. Dept. Agr. Tech. Bull. 787; 66, (1942).

12. E. W. ECKEY, "Vegetable Fats and Oils", Reinhold Publishing Co- New York; 1954, pág. 509; 507-509.

13. B. K. WATT, A. L. MERRIL, Composition of Foods, U.S.D.A.- pág. 58-59 Washington D.C. Diciembre 1963.

14. E. W. MEYER, "Soybean Flours and Grits"- 3rd International Congress of Food Science and Technology, Washington, 1970.

15. W. PRINGLE, J. Am. Oil.Chem. Soc., 51, 74A, (1974).

16. R. L. KELLOR, J. Am. Oil. Chem. Soc., 51, 77A-78A, (1974).

17. R. TKACHUK, G. N. IRVINE, Cereal Chem. 46, 206, (1969).

18. R. TKACHUK, Cereal Chem. 46, 419, (1969).

19. O. A. KROBER, J. L. CARTTER, Cereal Chem. 43, 320, (1966).

20. L. A. ZAPUTOVICH (PARAGUAY), M. de la PAZ (ECUADOR), C. LOPEZ LOPEZ (COLOMBIA), J. SILVA LARA (PERU), Becarios OEA - Laboratorios Bromatología. F.C.E. y N.- U.B.A.- Datos no publicados.

21. F. E. HORAN, J. Am. Oil.Chem. Soc., 51, 67A (1974).

22. J. J. RACKIS, J. Agr. Food Chem., 9, 409, (1961).

23. N. E. ARTZ, "Nutritional Value of Soybean Proteins for Infants and Children", Publ. por CORN Products Institute of Nutrition - Moffett Technical Center - 1965.

24. R. BRESSANI, J. Am. Oil.Chem. Soc., 52, 254A (1975).

25. I. E. LIENER, J. Am. Oil. Chem. Soc., 54, 454A (1977).

26. I. E. LIENER, J. Am. Oil. Chem. Soc., 56, 121 (1979).

27. J. J. RACKIS, J. Am. Oil. Chem. Soc., 51, 161A (1974).

28. N. J. WOLF, J. Am. Oil. Chem. Soc., 54, 112A (1977).

29. E. LINDER, "Toxicología de Alimentos", Ed. Acribia, 1978, pág. 10.

30. D. B. ARKCOLL, Boletim do Instituto de Tecnología de Alimentos- 48, 31, (1976).

31. J. COPPOCK, J. Am. Oil. Chem. Soc., 51, 59A (1974).

32. D. E. ALDEN. J. Am. Oil. Chem. Soc., 52, 244A (1975).

33. R. A. COTTON, J. Am. Oil. Chem. Soc., 51, 116A (1974).

34. W. J. HOOVER, J. Am. Oil. Chem. Soc., 52, 267A (1975).

35. E. H. M. GREVELL, J. Am. Oil. Chem. Soc., 51, 98A (1974).

36. A. A. LEVINSON, J. F. LEMAMIK, J. Am. Oil. Chem. Soc., 51, 135A (1974).

37. D. W. JOHNSON, J. Am. Oil. Chem. Soc., 52, 270A (1975).

38. J. RAKOSKY, J. Am. Oil. Chem. Soc., 51, 123A (1974).

39. T. P. YORKS, J. Sci. Food. Agr., 29, 895 (1978).

40. F. E. HORAN, "New Protein Foods", Edited by A.M. Altschul - Academic Press, New York - 1974. pág. 366.

41. E. F. SIPOS, J. G. ENDRES, P. T. TYBOR, Y. NAKAYIMA, J. Am. Oil.Chem. Soc., 56, 320 (1979).

42. D. FUKUSHINA, J. Am. Oil. Chem. Soc., 56, 357 (1979).

43. F. G. WINARNO, J. Am. Oil. Chem. Soc., 56, 363 (1979).

44. T. WATANABE, H. EBINE, M. OKADA, "New Protein Foods", Edited by A. M. Altschul - Academic Press - New York, 1974. Pág. 420, 428.

45. G. T. SCARMATO, M. H. BERTONI, P. CATTANEO, Comunicación privada.

46. Código Alimentario Argentino - Secretaría de Estado de Salud Pública, CAP. XIX, art. 1407 - (1980).

47. G. M. LOLAS, N. PALAMIDIS, P. MARKAKIS, Cereal Chem., 53, 867, (1976).

48. R. PASSMORE, B. M. NICOL, N. NARAYANARAO, G. H. BEATON, E. M. DEMAEYER, "Manual sobre necesidades Nutricionales del Hombre", Publ. FAO/OMS pág. 57 - ROMA - 1975.

49. Grupo Mixto FAO/OMS - "Necesidades de Calcio", Editado por FAO/OMS-GINEBRA, 1962.

50. M. L. KAHADE, N. SIMONS, I. E.LIENER, Cereal Chem., 46, 518 (1969).

51. J. O. BOUZAS, M. H. BERTONI, Anales Asoc. Química Arg., 68, 81 (1980).

52. M. L. KAHADE, J. J. RACKIS, J. E. McGHEE, G. PUSKI, Cereal Chem., 51, 309 (1974).

53. J. J. RACKIS, J. E. McGHEE, I. E. LIENER, M. L. KAHADE, G. PUSKI, Cereal Sci. Today, 19, 513 (1974).

54. D. KRIVORUCHEO, H. KABA, M. SAMBUCETTI, J. SANAHUJA, Comunicación privada.

55. J. M. LYONS, L. F. LIPPERT, Lipids, 1, 136 (1966).

56. A. M. ALTSCHUL, Processed Plant Protein Foodstuff, Academic Press. Publ. New York. 1958, pág. 370.

57. G. R. LIST, A. J. HEAKIN, C. D. EVANS, L. T. BLACK, T. L. MOUNTS, J. Am. Oil. Chem. Soc., 55, 521 (1978).

58. A. V. ZHUROV, A. G. VERESHCHAGIN, J. Am. Oil. Chem. Soc., 53, 1 (1976).

59. V. C. MEHLENBACHER, "The Analysis of Fats and Oils", The Garrerd Press. Publ., Champaign Ill., pág. 592, 1960.

60. E. FEDELI, A. LANZANI, P. CAPELLA, G. JACINI, J. Am. Oil. Chem. Soc., 43, 254 (1966).

61. J. W. FARQUHAR, J. Lipid Res., 3, 21 (1962).

62. E. N. ZERBA, TESIS; Fac. Ciencias Exactas y Naturales U.B.A. (1974).

63. E. KLENK, H. DEBUCH, "Progress in the Chemistry of fats and other Lipids", Pergamon Press, New York, 1963, vol. 6, pág. 1.

64. G. O. ZARAGOZA, TESIS, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, U.B.A. (1978).

65. W. SZUTOWICZ, J. Am. Oil. Chem. Soc., 42, 254 (1965).

66. R. L. WHISTER, M. L. WOLFROM, "Methods en Carboydrates Chemistry", Academic Press - New York - London, vol. I, pág. 27, 1962.

67. R. W. BAILEY, E. J.BOURNE, J. Chromatog., 4, 206 (1960).

68. J. L. BUCHAN, R. J. SAVAGE, Analyst, 77, 401 (1952).

69. S. SCHWINMER, A. BEVENNE, Science, 123, 543 (1956).

70. M. S. VIGO, TESIS, Fac. de Ciencias Exactas y Naturales, U.B.A. (1972).

71. G. BARTLET, J. Biol. Chem., 234, 466 (1969).

72. A. O. RUCCI, M. H. BERTONI, Anales Asoc. Quím. Argentina, 62, 365(1974).

73. Association of Official Chemists, "Official Methods of Analysis" (16th ed.), The Association, Washington D.C. 1965.

74. E. CONKERTON, V. FRAMPTON, Archives of Biochem. and Biophys., 81, 130, (1959).

75. S. C. REVUELTO, TESIS, Fac. Ciencias Exactas y Naturales, U.B.A. (1976).

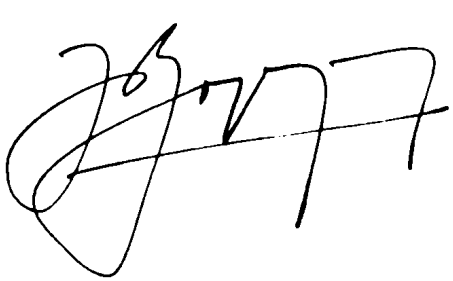
76. T. P. HILDITCH, P. N. WILLIAMS, "The Chemical Constitution of Natural Fats", Chapman and Hall. 4a. ed., London 1964, pág. 688.

77. FAO/OMS, "Comité del Codex sobre Grasas y Aceites", Cx/Fo, 74-11, Enero 1974. Documentos sobre determinaciones de esteroles en aceite de Oliva.

78. H. WAGNER, L. HORMMER, P. WOLFF, Biochem. Z., 334, 1975 (1961).

79. E..STAHL, "Thin Layer Chromatography", Springer Verlag, Berlin, 1969, pág. 52, 379, 810 y 811.

80. J. M. LOWENSTEIN, "Methods in Enzymology", vol. XIV, Lipids. Academic Press - New York - London, 1969 - pág. 543, 545.

81. D. MALLENS, H. MANGOLD, J. Am. Oil. Chem. Soc., 37, 376 (1960).

82. S. S. TIONG, H. M. WATERMAN, Chem. Ind., 81, 204 (1959).