

Concentración proteica por vía húmeda de torta de semilla de algodón procesada por prensas de tornillo¹

CARLOS ROLZ, HÉCTOR MAYORGA, JAIME GONZÁLEZ
Y ALBERTO ARZÚ

Instituto Centro Americano de Investigación y Tecnología Industrial (ICAITI),
Guatemala, C. A.

RESUMEN

En el presente trabajo se presentan los ensayos a escala de laboratorio y de planta piloto de la extracción y concentración de la proteína de la torta de semilla de algodón, proveniente de un proceso de prensado por tornillo. Para la obtención del precipitado se determinaron las condiciones óptimas de extracción y de precipitación. El pH de precipitación máximo de proteína se encuentra alrededor de 4.5, a temperatura ambiente ó a 60°C. La cantidad mínima de gosipol (libre y total) en los precipitados se encuentra alrededor de un pH de 5, también a ambas temperaturas. A escala piloto, extrayendo la torta, separando el residuo y secando el extracto por dispersión en aire caliente, se logró obtener un concentrado de color ligeramente amarillo, completamente soluble en agua, con aproximadamente 40% de proteína y 0.08% de gosipol libre, pero únicamente con un rendimiento del 37% en peso de torta procesada. Se discuten varios métodos para mejorar los rendimientos.

INTRODUCCION

Centroamérica es una de las áreas en desarrollo que, como en regiones similares, es característico un alto grado de deficiencia de proteína en la dieta humana (1). Grandes esfuerzos técnicos se han efectuado con el objeto de buscar solucio-

¹ Esta investigación fue desarrollada dentro de los Programas Multinacionales de la Organización de Estados Americanos (OEA).

Recibido: 2-6-71

nes a este problema; uno de ellos ha sido el realizado por el INCAP en la formulación de cierto tipo de mezclas vegetales proteicamente balanceadas. La más importante es la conocida como INCAPARINA, mezcla vegetal Nº 9 (2), de la que se vendió en la región centroamericana alrededor de 1000 toneladas métricas en 1969 y que también ha alcanzado aceptación en otras áreas de la América Latina. Uno de los componentes principales de esta mezcla es la harina de semilla de algodón (2).

En Centroamérica la semilla de algodón es, actualmente, la oleaginosa que más se produce (3) y es procesada normalmente bajo el punto de vista de recuperación del aceite, obteniéndose en general una torta de baja calidad proteica. Dadas estas características, la torta se emplea localmente como alimento para ganado vacuno o se exporta fuera del área, teniendo los procesadores locales de INCAPARINA problemas en satisfacer sus requisitos de una materia prima de calidad aceptable.

El objeto de este trabajo es estudiar la factibilidad técnica de un proceso de extracción por vía húmeda de la proteína presente en la torta y es parte de un programa general más amplio sobre la producción y aprovechamiento de proteínas vegetales y unicelulares (4, 5). La experimentación se llevó a cabo a escala de laboratorio y de planta piloto y parte de las técnicas empleadas fueron las desarrolladas en el Southern Regional Research Laboratory (6), con la diferencia de que en este trabajo se empleó una torta de origen y tipo de procesamiento completamente diferentes. Este tipo de concentrados pueden emplearse, dadas sus características físicoquímicas, para incrementar el contenido proteico de alimentos y bebidas tradicionales del área.

MATERIAL Y PROCEDIMIENTOS

1. *Materiales*

Para llevar a cabo los ensayos se utilizó torta de semilla de algodón obtenida por el proceso industrial de prensa de tornillo. La torta fue obtenida localmente de una fábrica en Guatemala y proveniente de una semilla con alto contenido de gopipol, procesada bajo condiciones óptimas en cuanto a minimizar la insolubilidad de la proteína (7, 4, 5). Un análisis típico de las tortas empleadas se muestra en el Cuadro Nº 1.

CUADRO N° 1
COMPOSICION QUIMICA DE UNA DE LAS TORTAS EMPLEADAS

	<u>% en peso</u>
Humedad	7.4
Proteína total (a)	45.02
Proteína soluble (b)	27.28
Solubilidad	62.78
Gosípol total	.55
Gosípol libre	.15
Grasa	15.05
Fibra cruda	7.85
Cenizas	7.12
Carbohidratos (c)	19.03
Compuestos por diferencia	5.23

(a) Proteína = N × 6.25

(b) Proteína soluble en NaOH 0.02N

(c) Expresados como glucosa

2. *Procedimientos*

Para los ensayos de laboratorio y de planta piloto, la torta de semilla de algodón se molió en un molino de dientes giratorios (Condux, Tipo V4S) y se tamizó en una tamizadora (Modelo SM, Russell Construction, Ltd.) a través de un tamiz de malla 50 (US Standards). La harina así obtenida fue empleada en los procedimientos de extracción a nivel de laboratorio. El rendimiento de la fracción tamizada fue alrededor del 45% en peso de la torta inicial. A nivel piloto, además de esta modalidad, se procesó torta molida, pero sin tamizarse, cuyo tamaño de partícula estaba entre 105 y 420 micrones.

2.1 *Ensayos a nivel de laboratorio*

Se efectuaron ensayos para determinar el tiempo óptimo de extracción, el pH óptimo de precipitación, la temperatura de precipitación y el efecto del pH de precipitación sobre el contenido de gopisol libre y total, utilizando como solvente una solución de NaOH 0.02N. Previamente (4) se efectuaron varias extracciones con diversas soluciones de electrolitos, encontrándose el NaOH como el que maximiza la extracción proteica. El procedimiento seguido en este conjunto de experiencias es el siguiente: la relación de harina a solvente empleada fue de 1 gramo de harina a 15 ml de solvente, tal como lo recomienda Berardi *et al.* (6). Esta relación se mantuvo constante a lo largo de esta serie de experimentos. Las cantidades normalmente empleadas fueron 1 kilo de harina y 15 litros de solvente. La suspensión fue agitada durante el tiempo de extracción escogido, a temperatura ambiente, por un agitador de laboratorio (Lighting Mixer, Model L); luego fue centrifugada a $3000\times g$ y temperatura ambiente, durante 30 minutos en una centrifuga de laboratorio (IEC, size 2, Model V). El sobrenadante fue acidificado con HCl 1N, al valor de pH deseado, utilizando un titulador automático Beckman (modelo K). El precipitado fue separado por centrifugación bajo las mismas condiciones descritas arriba.

Para evaluar el tiempo óptimo de extracción se tomaron muestras de la suspensión a los 15, 30, 45, 60 y 90 minutos, las cuales fueron centrifugadas. Para evaluar el pH óptimo de precipitación y la distribución de gopisol libre y total, un litro de extracto alcalino fue llevado al valor de pH deseado con HCl 1N. El precipitado fue separado por centrifugación

a 3000×g y temperatura ambiente. Se le cuantificó, tal cual, sus contenidos de humedad, proteína total y gopisol libre y total.

Los ensayos de precipitación se efectuaron a dos temperaturas distintas: ambiente ($\pm 20^{\circ}\text{C}$) y 60°C .

2.2 *Ensayos a nivel de planta piloto*

Los ensayos de planta piloto se efectuaron de acuerdo al procedimiento siguiente: el solvente empleado fue una solución de NaOH 0.02N. La extracción se efectuó empleando una relación de sólido a solvente de 1 a 15 (1 kilo de sólidos por cada 15 litros de solvente). Por razón de capacidad en el secado, la cantidad de sólidos en la extracción fue alrededor de 5 kilos. El tiempo de extracción fue de 30 minutos, durante los cuales la suspensión se agitó en un tanque de acero inoxidable con agitación central (Lighting Mixer, 1725 RPM); luego, la suspensión fue centrifugada a través de una centrifuga de canasta (Thomas Broadbent, Modelo 86) a 1500 RPM, donde se separaron los sólidos insolubles. El sobrenadante fue secado por dispersión en aire caliente (Niro Atomizer, No. 6115) con una temperatura de aire entrando de 200°C y una temperatura de aire saliendo de 125°C .

CUADRO N° 2
TIEMPO DE EXTRACCION

Tiempo. (min)	% de proteína extraída en base al contenido de pro- teína soluble inicial
15	90.6
30	90.0
45	90.7
60	93.7
90	94.2

2.3 Métodos analíticos

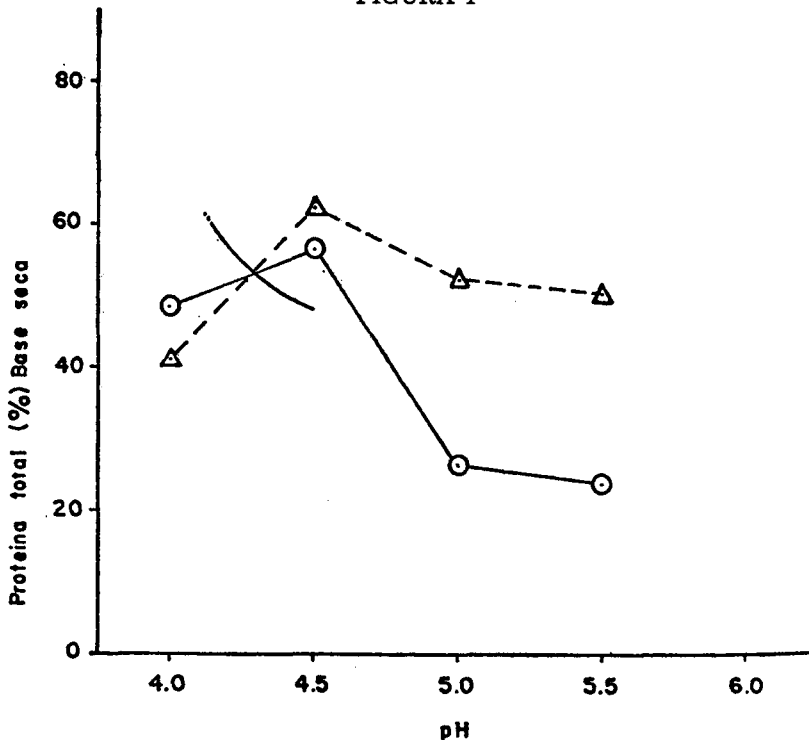
En las muestras se analizaron los contenidos de humedad, proteína total, gósipol libre, cenizas, grasa y fibra cruda, de acuerdo a los métodos oficiales de la American Oil Chemist's Society (8); proteína soluble en NaOH 0.02N por el método de Lyman (9); gósipol total por el método de Pons (10) y carbohidratos totales por el método del fenol-sulfúrico (11).

3 Resultados

3.1 Ensayos a nivel de laboratorio

El Cuadro 2 resume los resultados de los ensayos efectuados para determinar el tiempo óptimo de extracción de las proteínas de harina de semilla de algodón con NaOH 0.02N. Como puede observarse, a los 15 minutos se extrajo alrededor del 90% de la proteína soluble presente en el sustrato.

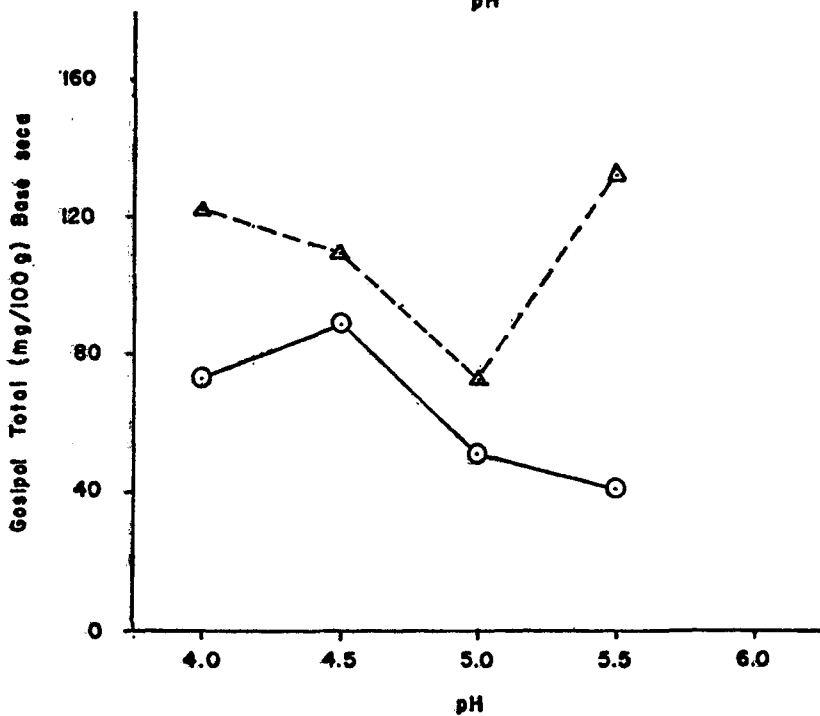
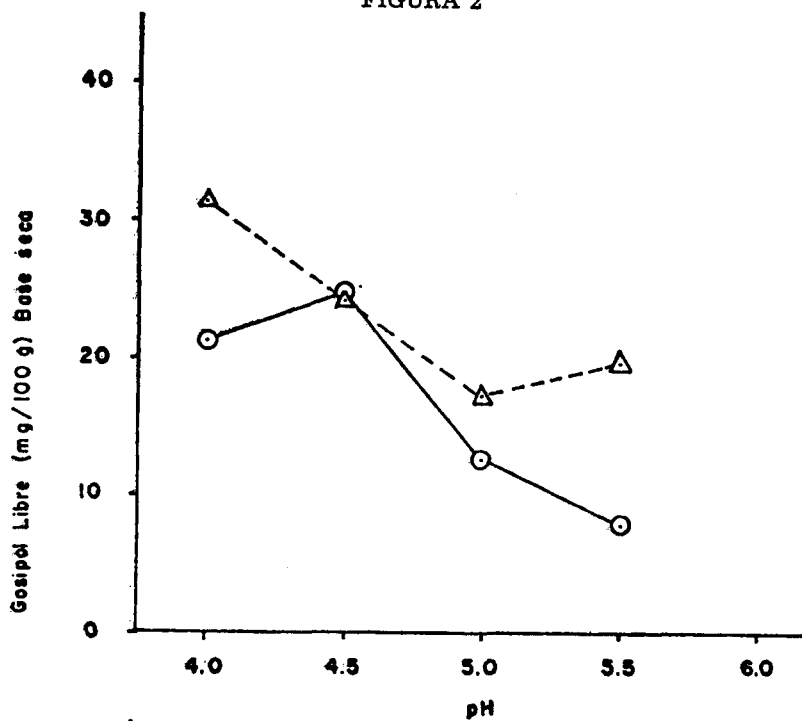
FIGURA 1



Efecto del pH de precipitación sobre el contenido de proteína del precipitado:

— Δ — 60°C
 — \circ — temperatura ambiente

FIGURA 2



Efecto del pH de precipitación sobre el contenido de gossipol libre y total del precipitado:

— △ — 60°C
— ○ — temperatura ambiente

En la Fig. 1 se muestran los resultados de los ensayos de precipitación para dos valores de temperatura efectuados con el objeto de determinar el valor de pH al cual el precipitado contiene mayor cantidad de proteína. Puede observarse que a pH 4.5 la concentración de proteína es significativamente mayor y que a pH 6 no se obtuvo ningún precipitado, independientemente del valor de la temperatura. Además, los resultados indican, en general, que a 60°C la concentración de proteína en el precipitado es mayor que la obtenida a temperatura ambiente.

En la Fig. 2 puede observarse que el contenido de gospol libre y total en el precipitado parece ser función tanto del pH como de la temperatura de precipitación: el gospol libre tiende a disminuir y el total a aumentar cuando se incrementa el valor de pH y además el contenido de ambos aumenta con la temperatura. El valor de pH que minimiza el contenido de gospol libre es 5.5 y la temperatura es la correspondiente a la del ambiente.

3.2 *Ensayos a nivel de planta piloto*

Se reportan resultados de dos pruebas: la primera, en la cual se partió de torta molida como material de extracción (procedimiento 1), y la segunda, en la cual la torta molida fue tamizada a través de una malla 50, utilizándose como material de extracción la harina que pasó ésta (procedimiento 2). En esta serie de ensayos, el extracto se secó por dispersión y no se efectuaron ensayos de precipitación por carecer del equipo piloto adecuado.

En los Cuadros 3 y 4 se muestran los análisis químicos y la distribución en peso y porcentual de las distintas fracciones obtenidas al emplear el procedimiento 1. En los Cuadros 5 y 6 se muestran los resultados del procedimiento 2.

En ambos casos, el producto final o concentrado contiene arriba de 40% de proteína total, con una solubilidad superior al 99%. El concentrado es un polvo muy fino, de color amarillo pálido, que se aglomera fácilmente.

Un análisis típico del concentrado se muestra en el Cuadro 7. Como puede observarse, tiende a ser deficiente en el contenido de lisina, aunque por otro lado el contenido de gospol libre y total es mucho menor que el de la materia prima.

CUADRO N° 3
ANALISIS QUIMICO DE LAS FRACCIONES

Por ciento, en peso (base seca)

	<u>Torta</u>	<u>Residuo</u>	<u>Concentrado</u>
Humedad	7.40	75.82	2.71
Proteína total	43.45	45.03	41.06
Proteína soluble	27.28	20.30	39.20
Solubilidad	62.78	45.06	95.46
Gosipol total	0.554	0.786	0.188
Gosipol libre	0.150	0.165	0.083
Carbohidratos	19.03	2.89	11.79
Grasa	15.05	6.06	6.51
Fibra cruda	7.85	3.62	1.71
Cenizas	7.12	10.42	11.93
Compuestos por diferencia	6.796	31.029	26.729

CUADRO N° 4
BALANCE DE MATERIALES
Peso y distribución de las distintas fracciones (base seca)

	TORTA		RESIDUO		CONCENTRADO		RECUPE- RACION (%)
	Peso (kilos)	Distribución ^a (%)	Peso (kilos)	Distribución (%)	Peso (kilos)	Distribución (%)	
Total	4,63	100,0	2,92	63,06	1,69	36,50	99,6
Proteína total	2,012	100,0	1,315	65,36	0,694	34,49	99,6
Proteína soluble	1,263	100,0	0,593	46,95	0,662	52,44	99,4
Gosípol total	0,0258	100,0	0,0227	87,98	0,0032	12,28	100,4
Gosípol libre	0,0069	100,0	0,0048	70,00	0,0014	20,28	90,3

^a Por ciento en peso del valor inicial

CUADRO N° 5
ANALISIS QUIMICO DE LAS FRACCIONES

	Por ciento, en peso (base seca)				
	Torta	Tamizado	Residuo 1	Residuo 2	Concentrado
Humedad	6,74	7,50	6,73	75,19	2,88
Proteína total	48,28	49,79	39,57	45,63	40,82
Proteína soluble	34,04	29,78	26,39	29,34	40,61
Solubilidad	70,5	59,81	66,70	64,30	99,50
Gosípol total	1,165	0,640	1,150	0,667	0,230
Gosípol libre	0,161	0,118	0,118	0,165	0,056
Carbohidratos	10,85	17,77	14,29	0,03	14,64
Grasa	19,26	14,45	12,69	9,11	16,25
Fibra cruda	2,70	8,46	14,70	1,62	0,70
Cenizas	7,37	6,84	6,46	9,54	7,48
Compuestos por diferencia	10,214	1,932	11,022	33,238	19,824

CUADRO N° 6
BALANCE DE MATERIALES

Peso y distribución de las distintas fracciones (base seca)

	TORTA		RESIDUO 1		TAMIZADO		RESIDUO 2		CONCENTRADO		RECUPERACION
	Peso (kilos)	Distribución (%) ^a	Peso (kilos)	Distribución (%)	Peso (kilos)	Distribución (%)	Peso (kilos)	Distribución (%)	Peso (kilos)	Distribución (%)	(%)
Total	11.19	100	6.15	55.16	5.02 ^b		3.68	33.00	1.10	9.89	97.7
Proteína total	5.402	100	2.434	45.04	-		1.680	31.10	0.450	8.34	98.1
Proteína soluble	4.062	100	1.623	39.96	-		1.080	26.58	0.448	11.03	84.5
Gosipol total	0.1304	100	0.0716	54.94	-		0.0245	18.83	0.0025	1.92	77.6
Gosipol libre	0.0180	100	0.0072	40.30	-		0.0053	29.37	0.0006	3.34	73.0

a. Por ciento en peso del valor inicial

b. No incluido en el balance total. La harina representa el 45% del valor de la torta.

CUADRO N° 7

ANALISIS QUIMICO REPRESENTATIVO DEL
CONCENTRADO

Humedad, %	3.0
Proteína, %	45.9
Grasa, %	8.3
Fibra cruda, %	1.2
Ceniza, %	8.5
Gosipol libre, %	0.037
Gosipol total, %	0.285
Epsilon-amino-lisina, g/16 gN	2.369
Compuestos por diferencia	35.778

Respecto al procedimiento de extracción, puede observarse en los Cuadros 4 y 6 que empleando torta molida sin tamizar se obtiene un rendimiento más elevado que en la alternativa de tamizarla. Además, en los dos casos el contenido de proteína soluble del residuo de extracción alcalina es bastante elevado (Cuadros 3 y 5).

4. Discusión de los resultados

4.1 Ensayos a nivel de laboratorio

De acuerdo con los resultados, el tiempo óptimo de extracción podría escogerse como de 30 minutos, lo cual permitiría una extracción de alrededor del 90% de la proteína soluble presente en la harina. Esto coincide con los datos reportados para la extracción con NaOH 0.03N de torta de semilla de algodón obtenida a partir de un proceso de pre prensa-solvente (5), y con lo recomendado por Berardi *et al.* (12).

Respecto al valor de pH que maximiza la precipitación

proteica a partir de un extracto alcalino, es evidente que es cercano a 4.5 y no es función de la temperatura de precipitación. Martínez et al. (13) encontró que el pH de máxima precipitación, con un extracto alcalino de harina de una variedad de semilla de algodón sin gossipol y prácticamente intacta en su calidad proteica, se obtiene en el intervalo de pH comprendido entre 4.5 y 6.5, aunque nada reporta de la temperatura de precipitación. La diferencia encontrada muy probablemente pueda atribuirse a que las condiciones de extracción del aceite por medio de prensa afecten las características de las proteínas.

La temperatura de precipitación, tal como lo muestran los resultados, influye en la cantidad de proteína precipitada, aumentándose al variarla desde 20°C hasta 60°C.

El efecto del pH de precipitación sobre el contenido de gossipol libre y total de los precipitados es análogo al reportado por Bressani *et al.* (7). Dado que en un proceso de producción de aislados proteicos interesa obtener el mayor rendimiento posible de proteína y, a la vez, el menor contenido de factores tóxicos, el valor óptimo de pH de precipitación tendría que escogerse para este material, estableciendo un compromiso entre ambos aspectos. Se cree necesario obtener datos experimentales complementarios que permitan ampliar estos conceptos.

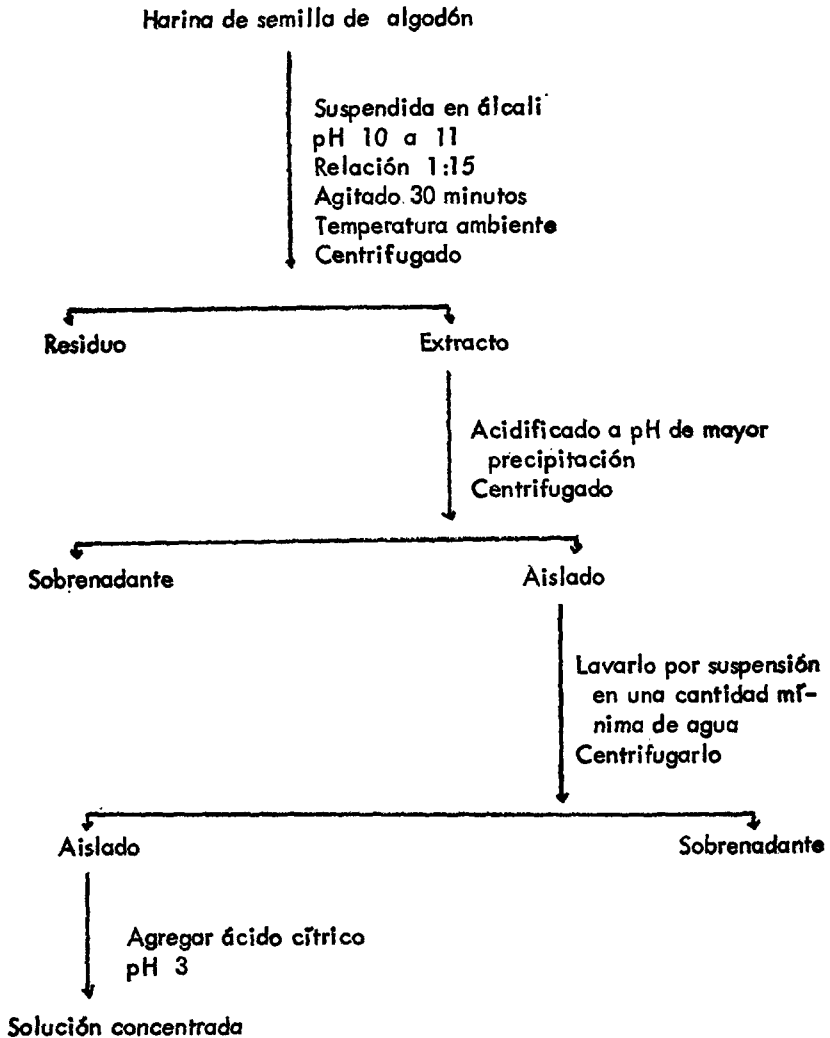
4.2 *Ensayos a nivel de planta piloto*

La concentración de gossipol libre en los productos obtenidos por ambos procedimientos está arriba del máximo permisible para consumo humano (15). Sin embargo, al procesar una torta de bajo contenido de gossipol, la cual puede obtenerse por variaciones en las condiciones de procesamiento o por tratamiento de la torta con aditivos por vía seca (4, 5), el nivel de gossipol libre, de acuerdo con los porcentajes de distribución obtenidos, estaría abajo de este valor máximo.

La recuperación de la proteína soluble en los productos obtenidos por ambos procedimientos es baja, puesto que en los ensayos de laboratorio se demostró que la mayoría de la proteína soluble se extrae en 15 minutos de tiempo de contacto. Esto se debe indudablemente a limitaciones de separación del tipo de centrífuga empleada. Es necesario usar otro tipo de separador en el cual los licores alcalinos de extracción se separen completamente de los sólidos.

FIGURA 3

ESQUEMA SUGERIDO EN (16) PARA PROCESAR TORTA
PROVENIENTE DE PROCESOS DE PRENSA



(La cual puede ser esterilizada por calor y ser utilizada
en esta forma)

Se observa también que en el procedimiento 1 el rendimiento de concentrado obtenido es prácticamente cuatro veces más que en el otro. Esto implica que no es necesario tamizar la torta molida.

La deficiencia de lisina disponible en el concentrado se debe a que el proceso de solubilización de las proteínas con NaOH 0.02N tiende a solubilizar preferencialmente las proteínas de alto peso molecular, las cuales son relativamente pobres en el contenido de lisina (2, 13). Berardi et al. (6), con el objeto de recuperar la mayor parte de las proteínas de bajo peso molecular, diseñaron un proceso de extracción en dos etapas: la primera, con agua, la que extrae las proteínas de bajo peso molecular, o sea, los ricos en contenido de ϵ -amino-lisina, y la segunda, con una solución de NaOH, que extrae las de alto peso molecular. Este proceso parece ser factible únicamente con harinas de semilla de algodón que no han sufrido ningún tipo de efecto desnaturalizante y en las cuales se haya evitado que el gopipol reaccione con los grupos ϵ -amino de la lisina (16).

Se ha estimado en forma preliminar que con los rendimientos reportados en los ensayos de planta piloto (procedimiento 1) y procesando a un nivel de 1000 toneladas cortas por año, el costo de producción del concentrado obtenido estará entre \$CA 0.05 y 0.08/lb (1 \$CA = 1 \$US).

En cuanto a la posible utilización del residuo de extracción alcalina se han realizado estudios que incluyen la solubilización enzimática de la proteína que contiene (5, 17) y, además, estudios de enriquecimiento proteico por vía microbiana utilizando como fuente de carbono la celulosa presente en el residuo (5).

El proceso de concentración de la proteína soluble delineado permite obtener un producto de utilización más versátil en la formulación de alimentos. Este producto es similar al obtenido por el proceso de Chayen y Webb (18). Hasta la fecha, el uso de harina de semilla de algodón en alimentos enriquecidos proteínicamente ha sido limitado por su calidad proteica, la presencia de factores tóxicos (especialmente gopipol) y por las características organolépticas que adquiere el producto resultante (19). Más aún, la utilización de tortas de semilla de algodón producidas por sistema de prensas ha sido eliminada como una posible fuente de proteínas para consumo

humano por la baja calidad proteica que presenta, a excepción de aquellas producidas bajo condiciones adecuadas.

Con el proceso descrito se obtiene un producto que por sus características de solubilidad proteica y color se puede utilizar con éxito en la formulación de cierto tipo de bebidas refrescantes y como aditivo en una gama amplia de productos. Sin embargo, Martínez (16) considera que, partiendo de una harina de semilla de algodón obtenida a partir de un proceso de prensa, los rendimientos que se obtienen en la producción de un concentrado de este tipo son muy bajos. Ella sugiere que un proceso más adecuado podría ser mostrado en la Fig. 3, en el cual se obtendría una solución proteica concentrada. Actualmente se están llevando a cabo ensayos para utilizar este tipo de solución, con el objeto de incrementar el contenido proteico de algunas bebidas tradicionales del área centroamericana (5).

SUMMARY

Wet concentration of protein in screw-press cottonseed cake

In this paper, laboratory and pilot plant trials of the extraction and concentration of screw-press cottonseed cake protein are presented. Optimum conditions for extraction and precipitation of the proteins were determined. The pH for maximum protein precipitation is about 4.5 at room temperature or at 60°. The minimum level of gossypol (free and total) in the precipitate is at about pH 5, also at both temperatures. At the pilot scale, extracting the cake, separating the residue, and spray drying the extract a concentrate was obtained, light yellow in color, completely soluble in water, with 40% total protein and 0.08% free gossypol, but with a yield of only 37% of the processed cake, various methods to improve the yields are discussed.

BIBLIOGRAFIA

- (1) Altschul, A. M.—Food proteins for humans. *Chem. Eng. News*, Nov. 24, 1969, p. 68.
- (2) Bressani, R.; L. G. Elías & E. Braham.—Cottonseed protein in human foods. *Adv. Chem. Series*, 57, American Society Publications. Washington, 1966.
- (3) Instituto Centroamericano de Investigación y Tecnología Industrial (ICAITI). Informe sobre la industria de aceites y grasas en Centroamérica. Guatemala, 1969.
- (4) Rolz, C. & F. Aguirre.—Informe de actividades. Programa Multinacional de Almidones, Proteínas y Lípidos. ICAITI/OEA, 1970.

- (5) Rolz, C. & F. Aguirre.—Informe de actividades. Programa Multinacional de Almidones, Proteínas y Lípidos. ICAITI/OEA, 1971 (por publicarse).
- (6) Berardi, L. C.; W. H. Martínez & C. J. Fernández.—Cottonseed proteins isolates: two step extraction procedure. *Food Technol.*, 23 (10), 75-82, 1969.
- (7) Mayorga, H.; J. González, A. Arzú & C. Rolz.—Procesamiento de semilla de algodón para producir aceite y proteína. *Turrialba*, 21 (1), 62-68, 1971.
- (8) American Oil Chemists' Society. Official and tentative methods of the American Oil Chemists' Society. 2nd ed. rev. to 1969, Chicago, USA, 1945-1969.
- (9) Lyman, C. M.; W. Y. Chang & J. R. Couch.—Evaluation of protein quality in cottonseed meals by chick growth and by a chemical index methods. *J. Nutr.*, 49: 679-684, 1953.
- (10) Pons, W. A.; R. A. Pittman & C. L. Hoffpauir.—*JAACS* 35, 93-98, 1958.
- (11) Hodge, J. E. & B. T. Hofreiter.—In: Whistler, R. L. & M. L. Woltram.—*Methods in Carbohydrate Chemistry*. Vol. I. Academic Press, New York, 1962, p. 386.
- (12) Berardi, L. C.; W. H. Martínez; C. J. Fernández & B. B. Grajee.—Extraction of nitrogenous constituents of cottonseed. In: Abstracts of Papers, 154th Meeting, American Oil Chemists' Society, 1967.
- (13) Martínez, W. H.—Cottonseed protein isolates. In: Proc. Conference on Protein-Rich Food Products from Oilseeds, New Orleans, 1968.
- (14) Bressani, R.; L. G. Elías & A. Porras.—Effect of pH on the free and total gossypol and nutritive value of cottonseed and protein concentrate. *Arch. Latinoamer. Nutr.*, 19 (4), 367-379, 1969.
- (15) FAO/WHO/UNICEF Protein Advisory Group, PAG guideline for preparation of edible cottonseed protein concentrates. PAG Guideline No. 4, Document R. 4/Add. 6/Rev. 1, June, 1970.
- (16) Martínez, W. H.—Comunicación personal, 1970.
- (17) Rolz, C.; A. Arzú, H. Mayorga & J. González.—Enzymatic hidrolisis of cottonseed protein. *J. Agric. Food Chem.*, 1971 (por publicarse).
- (18) Smith, R. H.—Lipid-protein isolates. In: *World Protein Resources*. Adv. Chem. Series 57, American Chemical Society Publications, Washington, 1966.
- (19) Altschul, A. M.; C. M. Lyman & F. H. Thurber.—Cottonseed meal. In: *Processed plant protein foodstuffs*. A. M. Altschul, Ed. Academic Press, New York, 1958, p. 469-534.