ELIMINACION DE COMPUESTOS TOXICOS, EVALUACION BIOLOGICA Y CARACTERIZACION PARCIAL DE LA PROTEINA DE PASTA DE JOJOBA *(Simmondsia chinensis* [Link] Schneider)

Luis Angel Medina Juárez[1] *y Augusto Trejo González*[2]

Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CICTUS),
Universidad de Sonora
Hermosillo, México, y

Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C.
Hermosillo, México

RESUMEN

El objetivo principal de este trabajo fue el establecimiento de una metodología para destoxificar la pasta y harina de jojoba *(Simmondsia chinensis* (Link) Schneider), su evaluación biológica y caracterización parcial de la proteína. Para la experimentación se utilizó pasta residual y semilla sin testa de jojoba; estos materiales fueron desengrasados con hexano y destoxificados con una mezcla de isopropanol-agua (7.3). Los productos destoxificados fueron evaluados por el método de la NPR para determinar el valor nutritivo de la proteína. La solución destoxificadora eliminó el 86o/o de los compuestos fenólicos y totalmente a las simmondsinas responsables del efecto letal y amargo que tiene la semilla completa o la pasta residual para los animales de laboratorio. Los productos destoxificados, incorporados a las dietas para ratas, mostraron que no sólo hubo sobrevivencia de los animales a lo largo de los 12 días de experimentación, sino incluso ganancia en peso. Sin embargo, los valores de NPR fueron significativamente diferentes a los de caseína ($P < 0.05$). De las fracciones proteínicas aisladas de la harina destoxificada de jojoba, el 61.8o/o representó a la fracción acuosa soluble, el 22.6o/o a la fracción salina soluble, y la alcalina fue de 14.6o/o. Las curvas de solubilidad de nitrógeno para estas fracciones mostraron que en la región de pH 3.0 se presentaba el punto isoeléctrico (pI) para las proteínas acuosas y salino-solubles y un pI para la alcalino-soluble de 4.5 a 5.0, y el pH de máxima solubilidad para todas las fracciones se presentó en las cercanías de 7.0.

Manuscrito modificado recibido: 7–7–88.

1 Profesor-Investigador de la Universidad de Sonora, Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CICTUS), Hermosillo, Sonora, México.

2 Profesor-Investigador del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C., Hermosillo, Sonora, México.

Esta metodología propone una solución para la utilización integral de la jojoba, que pueda emplear la pasta destoxificada para alimentación animal o para el aislamiento de proteínas.

INTRODUCCION

La jojoba, *(Simmondsia chinensis* (Link) Schneider), es una angiosperma arbustiva perenne originaria del desierto de Sonora, que comprende los Estados de Arizona y California en los Estados Unidos de América (EUA) y de Sonora y Baja California en México (1). De las semillas de la planta se obtiene una cera líquida (alrededor del 50o/o en peso), que tiene mucha demanda por su utilización en cosméticos, farmacia y como lubricante industrial (2, 3). Las semillas han sido utilizadas en medicina tradicional por los indios Seri de Sonora (4).

La planta silvestre ha sido sometida a domesticación, tomando en consideración solamente el aspecto del peso de semilla por planta y el contenido de la cera líquida (5). Existen en el desierto sonorense aproximadamente 19,600 hectáreas de jojoba bajo condiciones de cultivo, que fueron establecidas entre los años 1978-1983; el 86o/o, se encuentran en los EUA, y el resto en la región desértica de México. Considerando la edad de las plantas (4 a 6 años) en ambos países, la producción de semilla, y por supuesto de aceite, se elevará significativamente a partir de 1987 (6), lo que producirá un volumen importante de pasta residual. Esta pasta contiene 32o/o de proteína, 42o/o de carbohidratos y 10o/o de fibra cruda, lo que la convierte en un ingrediente potencial en la elaboración de alimentos balanceados para animales (7). No obstante, la presencia de una familia de compuestos altamente tóxicos para ratones, ratas, pollos, conejos y borregos, ha impedido la utilización directa de la pasta de jojoba en la formulación de raciones para animales (8, 9). También se ha observado que dicha pasta, incorporada a las raciones de animales de interés económico (10-13), ha sido discriminada por los animales del resto de la ración debido a su amargor, lo que se refleja en el bajo consumo y, por consiguiente, en la eficiencia de conversión.

Los compuestos identificados como responsables del efecto letal que ejerce sobre animales de laboratorio, se conocen con el nombre genérico de simmondsinas (14), cuyo LD_{50} para ratas es de 4 g/kg (8).

Sin embargo, no se conoce el LD_{50} de la simmondsina-2-ferulato y, por otro lado, Williams (15), especula que la muerte y pérdida de peso en ratas alimentadas con pasta de jojoba, no sólo se debe al efecto de la simmondsina, sino al efecto conjunto con otros compuestos como inhibidores de tripsina, ácido fítico y compuestos fenólicos (16, 17).

Se han desarrollado métodos para la eliminación de los compuestos tóxicos de la pasta de jojoba: por solubilidad, utilizando solventes puros (agua, metanol, isopropanol y acetona), por calentamiento y tratamiento químico al grupo cianometilén utilizando peróxido de hidrógeno amoniacal (12). Otro método de destoxificación utilizado recientemente es el de fermentación, el cual consiste en inocular a la pasta de jojoba con *Lactobacillus acidofilus* y *bulgaricus* (13), pero sus características amargas no han sido del todo eliminadas.

Los objetivos del presente trabajo fueron: establecer una metodología para la eliminación de los compuestos tóxicos y amargos de la pasta y harina de jojoba, evaluar biológicamente los productos destoxificados, y la extracción y caracterización parcial de la proteína.

MATERIAL Y METODOS

Materia Prima

Los materiales utilizados en este trabajo fueron: semilla de jojoba cosechada en 1985 en el campo Santa Czarina de la Costa de Hermosillo, y pasta de jojoba –residuo de la extracción mecánica por expeller (Hunder, modelo EX-100)– del aceite de la semilla de jojoba.

Remoción de la Testa de la Semilla de Jojoba

Esta última fue sometida a varios tratamientos térmicos con agua (agua caliente y vapor), para eliminar la testa. Una vez que se aplicó el vapor, se frotó la semilla entre los dedos de la mano para separar la testa del cotiledón. Después, la almendra se puso a secar en una estufa de aire forzado a 45°C por 4 horas y se desengrasó.

Desengrasado de Semilla y Pasta de Jojoba

Las semillas de jojoba con testa (pasta de jojoba), y sin testa (harina de jojoba), fueron molidas en una licuadora por 4 min utilizando hexano como disolvente en una relación Semilla: hexano de 1:2, luego se pasaron a un extractor tipo Soxhlet con hexano, con una relación almendra: solvente de 1: 6, durante 24 horas.

Eliminación de Compuestos Tóxicos de la Jojoba

En este trabajo se eligió el uso de isopropanol por las características de solubilidad que presenta hacia los compuestos fenólicos, sobre todo cuando se emplea en mezclas acuosas.

La harina de jojoba fue extraída con isopropanol en diferentes mezclas con agua y diferentes tiempos con una relación solvente:pasta de 10:1, a temperatura ambiente y con agitación con un agitador de flecha (Plysciense Corp., modelo RZR10). La extracción se repitió tres veces; al término de los tiempos de extracción se filtró a través de un embudo Buchner de porcelana y papel filtro Whatman No. 1 con presión reducida. Una vez seca la harina de jojoba, se procedió a realizar un análisis de macrocomponentes y se cuantificaron los tóxicos residuales y el contenido de fenoles.

Con miras a lograr las condiciones óptimas para extracción de los tóxicos, se tomó en cuenta la influencia que pudieran tener los parámetros: relación isopropanol:agua, tiempo de extracción y relación solvente:semilla (v/p), a través de un diseño de experimentos factorial 2 con dos repeticiones, por medio del cual se comprobó la no existencia de un efecto combinado entre estos parámetros. Al no existir un efecto

combinado entre los parámetros en el proceso de destoxificación se procedió a evaluar cada uno de ellos por separado. Así, en el caso de la relación isopropanol:agua, se probaron varias mezclas de isopropanol:agua (1:9 hasta 9:1), para lograr la máxima extracción de simmondsinas y fenoles. Se probaron varios tiempos de extracción, desde 2 hasta 14 horas y por último se probó la relación solvente:semilla (v/p) desde 10:1 hasta 30:1.

Análisis de Macrocomponentes

A la pasta y harina de jojoba desengrasadas y destoxificadas, se les practicó el análisis de proteína (N x 5.30), extracto etéreo, cenizas, fibra cruda, humedad y extracto no proteínico, según técnicas de la AOAC (18).

Extracción y Determinación Semicuantitativa de Simmondsinas

Sobre placas cromatográficas se aplicaron los extractos conteniendo los tóxicos junto con los estándares de simmondsina y simmondsina-2-ferulato, desarrollándose la cromatografía y revelándose a la luz UV a 250 nm. El método tiene una sensibilidad para medir simmondsina-2-ferulato de 0.05 µg al UV. Durante la cuantificación se hace una comparación visual de la intensidad de las manchas de los estándares, respecto a la intensidad de las manchas de las muestras. Se dice que este método es semicuantitativo debido a que se efectuó a través de comparación visual y no a través de un equipo de precisión. Los estándares de simmondsina y simmondsina-2-ferulato se aislaron y purificaron a partir de pasta de jojoba, según el procedimiento propuesto por Verbiscar y Banigan (19).

Determinación Cuantitativa de Compuestos Fenólicos

La determinación de compuestos fenólicos en la harina de jojoba se llevó a cabo por el método de Folin-Denis (18), el cual cuantifica: taninos, flavonoides y ácidos fenólicos (20). Se leyó a 760 nm en un espectrofotómetro Coleman Junior II Modelo 6/35, y su absorbencia se interpoló de una curva preparada con una solución patrón de ácido tánico de 0.1 mg/ml.

Evaluación Biológica de las Pastas y Harinas Destoxificadas de Jojoba

La evaluación biológica se realizó por medio de la razón proteínica neta (NPR), de acuerdo al método de Bender y Doell (21). Esta evaluación, según Happich *et al.* (22), propone que sea durante 10 ó 14 días (22). En el presente trabajo se efectuó en 12 días.

Para la evaluación se utilizaron 70 ratas recién destetadas de la cepa Sprague Dawley, con un peso de 35 g a 45 g. Los animales fueron distribuidos en jaulas metabólicas individuales de acero inoxidable y condiciones ambientales controladas de 22-23°C, 55-65°/o de humedad y un período de luz obscuridad de 12 horas. Se les dio alimento fresco y agua *ad libitum* y se pesaron cada tres días. Se formaron siete grupos de 10 ratas cada uno; la dieta fue similar para todos los grupos a excepción de

la fuente proteínica, que para cada grupo estuvo constituída por: caseína-ANRC libre de nitrógeno, pasta de jojoba, harina de jojoba, harina de jojoba destoxificada con isopropanol al 70o/o en una relación solvente/harina 20:1, harina de jojoba destoxificada con isopropanol al 70o/o en una relación solvente/harina 30:1, y pasta de jojoba destoxificada con isopropanol al 70o/o en una relación solvente/pasta 30:1. Todas las dietas fueron elaboradas en base a 10o/o de proteína. En la dieta control, este 10o/o fue proporcionado por caseína, tal como se muestra en la Tabla 1.

TABLA 1

COMPOSICION DE LA DIETA BASAL USADA PARA LA EVALUACION BIOLOGICA DE HARINA DESTOXIFICADA DE JOJOBA

Ingrediente[1]	g/100 g
Aceite de algodón	8.0
Vitaminas Premix	1.0
Minerales Premix	5.0
Celulosa	1.0
Agua	5.0
Cr_2O_3	0.2

La proteína se incluyó en relación de 10o/o a la dieta y se agregó almidón y dextrosa para completar el 100o/o.

1 Aceite, minerales, celulosa y agua se ajustaron después del análisis de proteína de las harinas, de acuerdo al Método 43.212, de la AOAC (18).
Todos los ingredientes, excepto el aceite de algodón, se obtuvieron de Bioserv, Inc., N. J., EUA, 1982. La premezcla de vitaminas contiene lo siguiente en g/kg de dieta: ácido ascórbico, 0.45; biotina, 0.0002; pantotenato de calcio, 0.03; colina, 0.633, ácido fólico, 0.0009; inositol, 0.05; manodiona, 0.02; niacina, 0.04; PABA, 0.05; piridoxina, 0.01; riboflavina, 0.01; tiamina, 0.01; vitamina A, 9,000 IU; vitamina B_{12}, 0.01 mg; vitamina D, 1,000 IU; y vitamina E, 25 IU. La premezcla de minerales contiene, en g/kg de dieta: aluminio, 0.0005; calcio, 11.08; cloro, 4.8; cobre, 0.0175; flúor, 0.0027; yodo, 0.003; hierro, 0.385; magnesio, 0.3812; manganeso, 0.0055; fósforo, 2.5305; potasio, 5.882; sodio, 1.369; azufre, 0.1162 y zinc, 0.0637.

Diseño y Análisis Estadístico

El diseño fue completamente al azar con siete tratamientos y 10 repeticiones por tratamiento. El análisis estadístico se hizo a base de análisis de varianza de un criterio de clasificación. Cuando de estos resultados —de acuerdo al diseño especificado— rechazaron la igualdad de medias, se utilizó la prueba de rango múltiple SNK (23).

Extracción y Caracterización Parcial de la Proteína de Jojoba

Se suspendió harina de jojoba desengrasada en una mezcla de isopropanol-agua (70:30), se agitó durante 24 horas, y al cabo de este tiempo se puso en un tubo de diálisis (Visking); luego se dializó contra agua desionizada con tres cambios durante 24 hr, para eliminar todos los compuestos solubles de bajo peso molecular (azúcares, sales minerales y simmondsinas) y, de esta manera, obtener las proteínas libres de compuestos fenólicos. Una vez dializadas las muestras, se separaron tres fracciones dependiendo de la solubilidad (Figura 1). Luego, a cada una de las fracciones se les cuantificó el contenido de proteína por medio del método de Biuret (24).

RESULTADOS Y DISCUSION

Eliminación de Compuestos Tóxicos del Harina de Jojoba

Se establecieron las condiciones óptimas durante el proceso de destoxificación, resultando ser la mejor relación de isopropanol-agua, la del 70o/o, la cual extrajo el 86o/o de los compuestos fenólicos contenidos en la harina de jojoba desengrasada. Las simmondsinas mostraron solubilidad plena a todas las concentraciones probadas, habiéndose extraído el 99o/o con la mezcla isopropanol-agua al 70o/o. La mejor relación disolvente-harina fue la de 30:1. La determinación analítica de la simmondsina reveló que con esta relación, era eliminada totalmente de la harina desengrasada.

El tiempo óptimo de extracción exhaustiva de los compuestos fenólicos de la harina desengrasada de jojoba, fue de 4 horas, ya que tiempos más largos mostraron un comportamiento asintótico, con lo que se extrajo el 86o/o.

Las pérdidas en peso por el tratamiento con isopropanol al 70o/o, fueron del orden de 36.5o/o. La pérdida se debe esencialmente a la disolución de azúcares y en menor proporción a: oligosacáridos, aminoácidos libres, cera residual, fenoles, simmondsina y proteínas, entre otros.

La Tabla 2 expone los contenidos en macrocomponentes de cuatro productos de jojoba y la testa; la harina desengrasada y la harina destoxificada acusaron el contenido más alto en proteínas. El cálculo para este contenido se hizo en base a la recomendación de Southgate (25), utilizando el factor de 5.30 para el porcentaje de proteína.

En la misma Tabla 2 se muestran los contenidos de simmondsina de los productos de semilla y testa de jojoba. Es notable el hecho de que la harina desengrasada y tratada con isopropanol al 70o/o no presentó simmondsinas residuales, por lo que se logró la eliminación completa de estos compuestos, a diferencia de los tratamientos notificados en la bibliografía, los cuales dejan simmondsina residual, especialmente simmondsina-2-ferulato (12, 13).

Es conocido el hecho de que la cascarilla o testa de semillas, presenta un gran contenido de compuestos fenólicos amargos y astringentes, además de compuestos fenólicos coloridos (26); el caso de la jojoba podría ser el mismo. Como se observa en la citada Tabla 2, la testa tiene 6.5o/o de fenoles, comparado con 1.12o/o de la harina desengrasada.

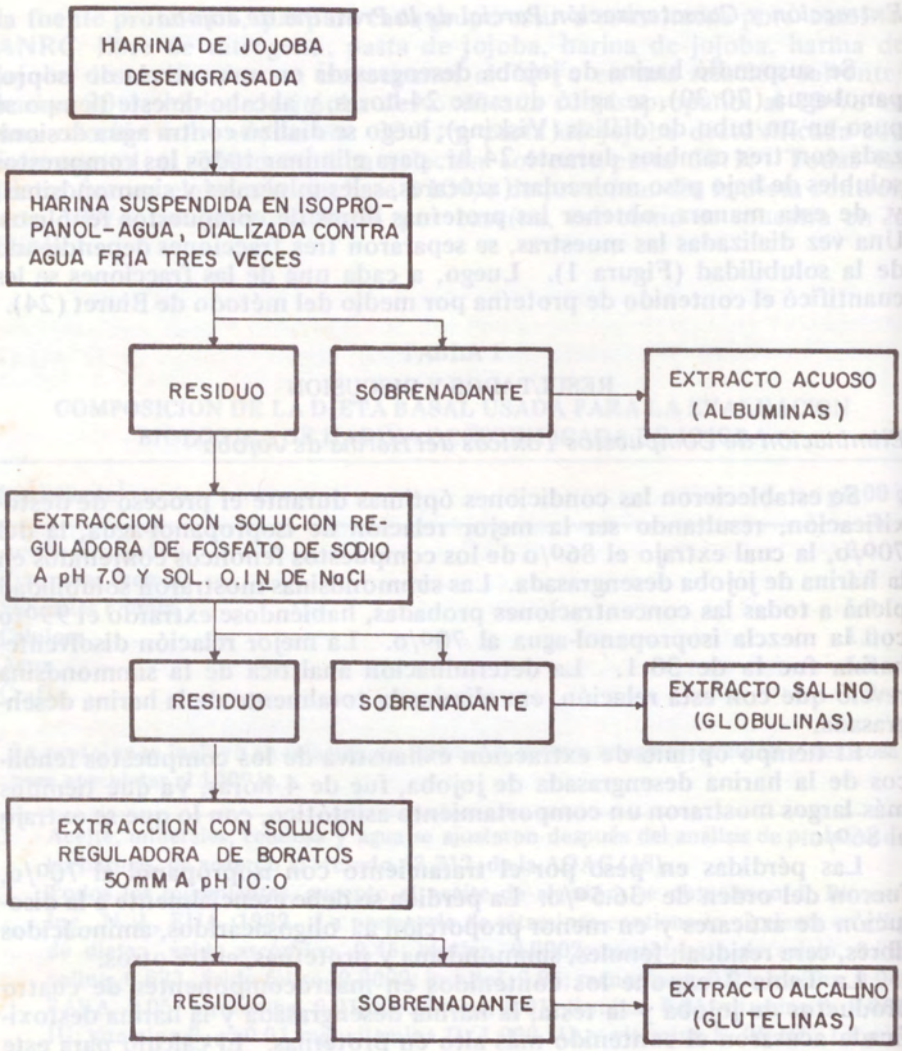

FIGURA 1

Esquema de la extracción de la proteína de harina de jojoba, de acuerdo a su solubilidad

TABLA 2

COMPOSICION DE LA PASTA Y HARINA DESENGRASADA, PASTA Y HARINA DESTOXIFICADA Y TESTA DE SEMILLA DE JOJOBA

Componente	Pasta		Harina		Testa de semilla de jojoba[1] g/100 g
	Desengrasada (Expeller) g/100 g	Destoxificada (Isop. 70o/o) g/100 g	Desengrasada (Hexano) g/100 g	Destoxificada (Isop. 70o/o) g/100 g	
Proteína (N x 5.30)	24.6± 0.7	27.5± 1.0	33.0 ±1.0	42.4 ±1.2	6.0 ±0.5
Humedad	4.0± 0.5	4.0± 0.7	4.2 ±0.5	2.5 ±0.3	10.0 ±1.0
Grasa	10.0± 0.2	0.5± 0.2	0.6 ±0.1	0.5 ±0.1	0.7 ±0.1
Fibra cruda	9.5± 1.0	11.0± 1.2	8.0 ±0.9	9.0 ±1.2	15.6 ±1.2
Cenizas	3.7± 0.5	4.0± 0.8	3.9 ±0.6	4.1 ±0.7	4.4 ±1.0
Carbohidratos[2]	48.8	53.0	50.27	41.53	63.30
Simmondsina[3]	4.6± 0.70	ND[5]	6.2 ±0.70	ND[5]	0.31 ± 0.09
Simmondsina-2-ferulato[3]	1.8± 0.30	ND[5]	0.85 ±0.30	ND[5]	0.12 ± 0.09
Fenoles[4]	—	0.14± 0.04	1.12 ±0.12	0.16 ± 0.03	6.50 ± 0.01

1 La testa representa el 15 ±2o/o de la semilla entera.
2 Por diferencia.
3 Por cromatografía en capa delgada (19).
4 Por el método de Folin-Denis (20).
5 No detectado por cromatografía de capa delgada, el método no detecta valores por debajo de 0.05 µg al UV.

En estas circunstancias, fue necesario eliminar la testa de la semilla con el objeto de disminuir la contribución de fenoles, ya que el 15 ± 2o/o del peso de la semilla completa es testa. El tratamiento con vapor fue seleccionado, considerándose que la testa se desprende con mayor facilidad de la jojoba.

El almendra obtenida se desengrasó con hexano y se obtuvo una harina con un rendimiento de 51o/o en peso y con una cantidad de cera líquida residual de 0.6o/o. Con este contenido tan bajo de cera, se garantizó hasta donde se pudo, que se disminuyeran los efectos tóxicos que, según se ha informado, se presentan en ratones alimentados con niveles mayores del 2o/o de cera de jojoba (12).

Evaluación Biológica de la Harina Destoxificada

La dieta con un menor contenido de tóxicos, según se aprecia en la Tabla 3, condujo a un mayor consumo de alimento por las ratas, mayor ganancia de peso y un 100o/o de sobrevivencia durante el ensayo; esto significa que el proceso de eliminación de tóxicos fue efectivo, ya que además de reducir los tóxicos, probablemente hizo más apetitosa la harina de jojoba destoxificada.

Durante el período experimental se pudo apreciar que las ratas alimentadas con dietas a base de pasta y harina de jojoba sin destoxificar, se rehusaron a consumir las dietas después de las primeras horas del experimento, lo que parece indicar que tanto la toxicidad de las simmondsinas como el sabor astringente fueron factores contribuyentes a la mortalidad observada. El fenómeno de rechazo al consumo de las dietas ha sido informado también por Verbiscar *et al.*, (13), con novillos, borregos, y ratas, en cuyo caso los animales incluso son capaces de seleccionar discriminadamente las partículas de pasta de jojoba en la dieta, y evitar su consumo.

Entre los muchos compuestos que acusan sabores amargos y astringentes se encuentran involucrados los compuestos fenólicos (27). Por otro lado, la astringencia al paladar se da en términos de fenoles por la presencia de proantocianidinas, siendo por demás relevante la observación de que, a medida que aumenta el peso molecular de estos compuestos, se incrementa la astringencia (28). Por lo tanto, la eliminación de los compuestos fenólicos de la jojoba por el tratamiento con isopropanol al 70o/o, pudo haber mejorado la aceptación de los productos destoxificados.

Una vez que se comprobó con los experimentos con ratas que los compuestos tóxicos de la jojoba habían sido eliminados, se procedió a la evaluación del valor nutritivo de la proteína, evaluación que consistió en el cálculo de la NPR. Esta metodología permite el uso de materiales proteínicos de bajo valor, los cuales no necesariamente promueven crecimiento. En este experimento, el factor de mantenimiento se calculó en base a la pérdida ponderal promedio del grupo de ratas alimentadas con una dieta libre de nitrógeno, el cual fue de 12.59 g a los 14 días. Los resultados de la evaluación se muestran en la Tabla 4, donde se observa una diferencia significativa entre los valores de NPR ($P < 0.05$). Según la prueba de comparación múltiple SNK, sin embargo, la NPR es igual para harina y pasta de jojoba destoxificada y diferente a la NPR de caseína. La

TABLA 3

EFECTO DE LA ELIMINACION DE COMPUESTOS TOXICOS DE LAS PASTAS Y HARINAS DE JOJOBA EN EL CRECIMIENTO Y MORTALIDAD DE RATAS

Dieta	Días	Tóxicos en la dieta[1] g/100 g	Cambio de peso g	Alimento consumido g	Mortalidad o/o
Pasta de jojoba desengrasada con expeller	1	2.40	—	--	20
	4	2.40	-10.1 ± 1.2	11.5± 2.0	100
Harina de jojoba desengrasada con solvente	4	1.82	-5.0 ±0.9	14.6± 3.2	20
	9	1.82	-7.0 ±1.7	26.3± 3.0	100
Harina de jojoba destoxificada con solv./harina 20:1	9	0.10	-0.1 ±0.7	39.0± 3.2	30
	12	0.10	3.5 ±1.0	59.0± 5.5	50
Harina de jojoba destoxificada con solv./harina 30:1	12	ND[2]	16.8 ±3.0	97.3± 2.7	0
Pasta de jojoba destoxificada con solv./pasta 30:1	12	ND[2]	10.8 ±3.4	82.1± 10.2	0

1 Simmondsina y Simmondsina-2-Ferulato.
2 No detectados por cromatografía de capa delgada. El método no detecta valores por debajo de 0.05 µg al UV.

superioridad de la NPR de la caseína sobre la de los productos destoxificados se debió a que la pasta de jojoba –al igual que la mayoría de las pastas de oleaginosas– son deficientes en aminoácidos azufrados (17). Los valores de R-NPR muestran de nuevo la similitud entre los grados de destoxificación de la pasta y harina de jojoba, y la diferencia con el control caseína.

Al comparar la pasta y harina de jojoba destoxificadas con otras fuentes proteínicas provenientes de plantas de las zonas áridas como *Cucurbita foetidíssima* (29) y *Zostera marina* y *Pachycereus pringlei* (30), se observa que la pasta y harina de jojoba destoxificadas tienen valores de NPR superiores.

Otros estudios que confirman la calidad nutricional de la jojoba han sido presentados por Storey *et al.* (17), quienes concluyen que el contenido de aminoácidos indispensables de harina de almendra de jojoba,

TABLA 4

RAZON PROTEINICA NETA (NPR), Y NPR RELATIVA DE PASTA Y HARINA DE JOJOBA

Dieta	NPR[3]	R-NPR
Caseína[1]	3.40 ± 0.70^{a}	100.0
Harina de jojoba destoxificada[2]	2.83 ± 0.50^{b}	83.2
Pasta de jojoba destoxificada[2]	2.74 ± 0.23^{b}	80.6

1 NPR calculada a los 14 días.
2 NPR calculada a los 12 días, en base a la ecuación de Bender y Doell (1957) (21).
3 Los valores con diferente superíndice son significativamente diferentes (SNK, $P < 0.05$).

cumple con los requerimientos de animales monogástricos tales como aves y puercos.

Caracterización de Proteína de Jojoba de Acuerdo a su Solubilidad

Se aislaron tres fracciones proteínicas de harina de jojoba destoxificada, siendo la mayor fracción la acuosa, que representó el 61.8o/o, y se le denominó albúmina, de acuerdo a la definición de proteínas por sus características de solubilidad (31).

A partir del residuo de la extracción de albúminas, se hicieron extracciones secuenciales de las otras fracciones proteínicas; primero con NaCl 0.5M con el fin de aislar las globulinas, habiéndose obtenido alrededor de un 23.6o/o de las proteínas solubles totales. Y de la extracción con la solución alcalina pH 10.0 de boratos, se obtuvieron 14.6o/o de glutelinas.

Características de Solubilidad de las Proteínas de Jojoba en Función del pH

Los contornos de la solubilidad de las fracciones proteínicas de la jojoba con relación al ambiente de pH se aprecian en la Figura 2. En la región de pH de mínima solubilidad, tanto las globulinas como las albúminas mostraron un punto isoeléctrico (pI) de 3.0, mientras que las glutelinas presentaron un pI de alrededor de 4.5-5.0.

En lo que respecta a los valores de pH de máxima solubilidad para las tres fracciones, éste parece estar en las cercanías de 7.0. Sin embargo, la fracción de glutelinas acusó también otro valor de pH en la región ácida, y está alrededor de pH 3.0.

Al preparar el perfil de pH para la fracción de globulinas, se encontró que el patrón de comportamiento no definía ni mínimos, ni máximos de solubilidad. Por lo tanto, se infirió que el ambiente iónico salino estaba influyendo en ese comportamiento, razón por la que hubo necesidad de eliminar el NaCl, por vía de diálisis, para así concretar la influencia que sobre esta fracción tenía el pH.

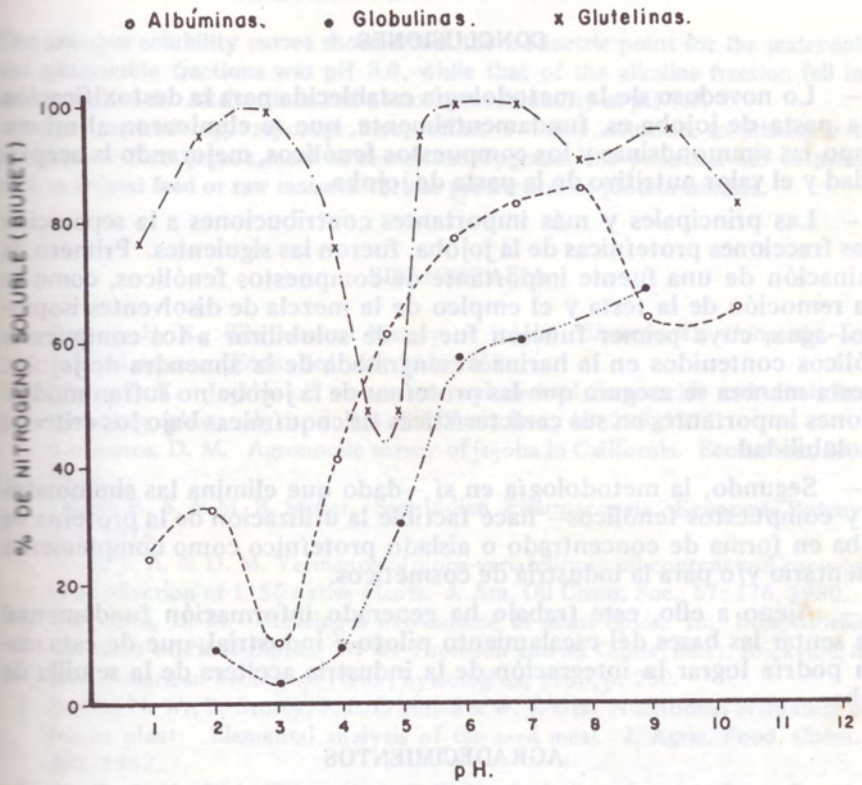

FIGURA 2

Curvas de solubilidad de proteína de jojoba en relación al pH

Uso Potencial de la Proteína de Jojoba

La destoxificación con isopropanol–agua al 70o/o a pesar de eliminar los compuestos tóxicos de la pasta de jojoba es un proceso caro, si se pretende utilizar sólo como pasta de jojoba. En cambio sería económicamente más factible el utilizar la proteína de jojoba en forma de concentrados y/o aislados proteínicos, dado que estos productos tienen un mayor costo y pueden orientarse a otros usos, el de los cosméticos, por ejemplo, donde la jojoba es ampliamente conocida. Sólo en Estados Unidos, la industria de los cosméticos requiere 100,000 toneladas/año de hidrolizado de proteína y es factible que la proteína de jojoba pueda tomar gran parte de este mercado.

CONCLUSIONES

– Lo novedoso de la metodología establecida para la destoxificación de la pasta de jojoba es, fundamentalmente, que se eliminaron al mismo tiempo las simmondsinas y los compuestos fenólicos, mejorando la aceptabilidad y el valor nutritivo de la pasta de jojoba.

– Las principales y más importantes contribuciones a la separación de las fracciones proteínicas de la jojoba, fueron las siguientes. Primero, la eliminación de una fuente importante de compuestos fenólicos, como lo es la remoción de la testa y el empleo de la mezcla de disolventes isopropanol-agua, cuya primer función fue la de solubilizar a los compuestos fenólicos contenidos en la harina desengrasada de la almendra de jojoba. De esta manera se asegura que las proteínas de la jojoba no sufran modificaciones importantes en sus características fisicoquímicas bajo los criterios de solubilidad.

– Segundo, la metodología en sí –dado que elimina las simmondsinas y compuestos fenólicos– hace factible la utilización de la proteína de jojoba en forma de concentrado o aislado proteínico como complemento alimentario y/o para la industria de cosméticos.

– Ajeno a ello, este trabajo ha generado información fundamental para sentar las bases del escalamiento piloto e industrial, que de esta manera podría lograr la integración de la industria aceitera de la semilla de jojoba.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan su más sincero agradecimiento a todas aquellas personas que de alguna manera ayudaron a la realizaron de este trabajo, de modo especial a Elvira G. de Mejía, Inocencio Higuera y Mauro E. Valencia J., por sus sugerencias y comentarios.

SUMMARY

ELIMINATION OF TOXIC COMPOUNDS, NUTRITIONAL EVALUATION, AND PARTIAL CHARACTERIZATION OF PROTEIN FROM JOJOBA MEAL (*Simmondsia chinensis* [Link] Schneider)

The purpose of this study was to establish a new methodology to remove the toxic compounds present in jojoba meal and flour. Also, to perform the biological evaluation of the detoxified products and to chemically characterize the protein fractions. Jojoba meal and seed without testa were deffated with hexane and detoxified with a 7:3 isopropanol-water mixture which removed 86o/o of total phenolic compounds and 100o/o of simmondsins originally present, the resulting products had reduced bitterness and caused no deaths on experimental animals. NPR values obtained for diets containing such products were significantly different from those obtained with the casein control ($p < 0.05$). Total protein was made up of three different fractions: the water-soluble fraction was the most abundant (61.8o/o), followed by the salt-soluble (23.6o/o), and the alkaline soluble fraction (14.6o/o).

The nitrogen solubility curves showed that the isoelectric point for the water-soluble and salt-soluble fractions was pH 3.0, while that of the alkaline fraction fell in the range of 4.5-5.0. All fractions had a maximum solubility at pH 7.0.

The methodology reported here, offers a viable solution to eliminate toxic compounds from jojoba meal or seeds, and upgrades the potential use of products such as animal feed or raw material for the production of protein isolates.

BIBLIOGRAFIA

1. Gentry, H. S. The natural history of jojoba *(Simmondsia chinensis)* and its cultural aspects. **Econ. Bot., 12**: 261, 1958.
2. Miwa, T. K. Jojoba oil wax esters and derived fatty acids and alcohols: gas cromatographic analysis. **J. Am. Oil Chem. Soc., 48**: 259, 1971.
3. Yermanos, D. M. Agronomic survey of jojoba in California. **Econ. Bot., 28**: 160, 1974.
4. Felger, R. S. & M. B. Moser. Seri Indian Pharmacopeia, **Economic Botany, 28**: 414, 1974.
5. Clark, J. A. & D. M. Yermanos. Jojoba-variability in oil content and composition in a collection of 1156 native plants. **J. Am. Oil Chem. Soc., 57**: 176, 1980.
6. Yermanos, D. M. Creating a new source of plant lipids. In: **Biosynthesis and Function of Plant Lipids.** W. W. Thomson and M. Gibbs (Eds.). Rockville, Maryland, American Society of Plant Physiologists, 1983, p. 250.
7. Bower, N. W., R. Storey, P. L. O'conell & W. J. Utz. Nutritional evaluation of the jojoba plant: Elemental analysis of the seed meal. **J. Agric. Food. Chem., 30**: 392, 1982.
8. Booth, A. N., C. A. Ellinger & A. C. Waiss. Isolation of a toxic factor from jojoba meal. **Life Science, 15**(6): 1115, 1974.
9. Weber, C. W. & B. L. Reid. Toxic effects of simmondsia in growing and reproducing mice. **Fed. Proc., 34**: 226, 1975.
10. Ngoupayou, J. D. N., P. M. Maiorino & B. L. Reid. Jojoba meal in poultry diets. **Poultry Sci., 61**: 1692, 1982.
11. Ngoupayou, J. D. N., P. M. Maiorino, W. A. Schurg & B. L. Reid. Jojoba meal in rabbit diets. **Nutr. Reps. Internat., 31**(1), 1985.
12. Verbiscar, A. J., T. F. Baningan, C. W. Weber, B. L. Reid, J. E. Trei, E. A. Nelson, R. F. Raffauf & D. Kosersky. Detoxification of jojoba meal. **J. Agric. Food Chem., 28**: 571, 1980.
13. Verbiscar, A. J., T. F. Banigan, C. W. Weber, B. L. Reid, R. S. Swingle, J. E. Trei & E. A. Nelson. Detoxification of jojoba meal by *Lactobacilli.* **J. Agric. Food Chem., 29**: 296, 1981.
14. Elliger, C. A., A. C. Waiss & R. E. Lunding. Simmondsin on usual-2-cyanomethylenecyclohexil glucoside from *Simmondsia californica.* **J. I. Chem. Soc., Perk. Trans.,** 1 Nov., **19**: 2202, 1973.
15. Williams, R. R. **The Toxicity of Simmondsin, a Glycoside Found in Jojoba.** Tesis de Maestría, Universidad de Arizona, 1980. (No. 141).
16. Wiseman, O. M. **Purification and Characterization of Protein Concentrates from Jojoba *(Simmondsia chinensis)* Pressed Meal.** Tesis Doctoral, Universidad de Arizona, 1983.
17. Storey, R., N. Bower, C. Lovejoy & R. Tagge. Analysis of selected nutritional and antinutritional factors in jojoba seed from the United States and México. In: **Jojoba and its Uses, Through 1982. Proceedings of the Fifth International**

Conference of Jojoba and its Uses. A. E. Cesnick (Ed.). Tucson Arizona, University of Arizona, College of Agriculture, Conference Department, 1983, p. 25.

18. Association of Official Agricultural Chemists. **Official Methods of Analysis of the AOAC.** 4th ed. Washington, D. C., The Association, 1984.
19. Verbiscar, A. J. & T. F. Banigan. Composition of jojoba seed and foliage. **J. Agr. Food Chem., 26**: 1456, 1978.
20. Hahn, D. H., L. W. Rooney & C. F. Earp. Tannins and phenols of sorghum. **Cereal quality Lab., Dept. of Soil & Crop, Sciences. Texas A & M University, 29** (12): 778, 1984.
21. Bender, A. E. & B. H. Doell. Biological evaluation of proteins: A new aspect. **Brit. J. Nutr., 11**: 140, 1957.
22. Happich, M. L., C. E. Bodwell, R. Hackler, L. Phillips, J. G. Derse, P. H. Elliott, J. G. Hartnagel, R. E. Hopkins, D. T. Kapiszka, E. L. Mitchell, G. F. Parsons, E. E. Prescher, E. S. Robaidek & M. Wonack. Net protein ratio data: AACC-ASTM Collaborative Study. **JAOAC, 67**: 255, 1984.
23. Snedecor, G. W. & W. C. Cochran. **Statistical Methods.** 17th ed. Ames, Iowa, The Iowa State University Press, 1980, p. 157.
24. Chaykin, S. M. **Biochemistry Laboratory Techniques.** New York, N. Y., John Wiley & Sons, Inc., 1966, p. 17.
25. Southgate, D. A. T. **Guidelines for the Preparation of Tables of Food Composition.** Basel (Switzerland), S. Karger (Ed.), 1974, p. 27.
26. Gupta, R. K. & E. Haslam. Vegetable tannins – structure and biosynthesis. In: **Polyphenols in Cereal and Legumes. Proceedings of the 36th Annual Meeting of the Institute of Food Technologists.** J. H. Hule (Ed.). St. Luis Missouri, 10-13 June, 1979, p. 15-24.
27. Van Sumere, C. F., J. Albercht, A. Dedonder, A. De Pooter & I. Pé. Plant proteins and phenolics. In: **The Chemistry and Biochemistry of Plant Proteins.** Vol. 11. J. B. Harborne and C. F. Van Sumers (Eds.). New York, N. Y., Academic Press, 1975, p. 212-256.
28. Haslam, E. Vegetable tannins. In: **The Biochemistry of Plants.** Vol. 7, **Secondary Plant Products.** E. E. Conn (Ed.). San Francisco, Academic Press, Inc., 1981, p. 527-556.
29. Scheerens, J. C. & J. W. Berry. Buffalo gourd: Composition and functionality of potential food ingredients. **Cereal Foods World, 31**(2): 183, 1986.
30. Valencia, M. E., J. L. Atondo & G. Hernández. Nutritive value of Zostera marina and Cardon *(Pachycereus pringlei)* as consumed by the Seri Indians in Sonora México. **Ecol. Food Nutr., 17**: 165, 1985.
31. Wall, J. S. Cereal protein. In: **Symposium on Foods: Proteins and their Reactions.** H. W. Schultz (Ed.). Westport, Connecticut, The Avi Publishing Company, Inc., 1964, p. 315-341.