

facultad de quimica



UNAM

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

METODOS PARA AISLAR PROTEINAS  
DE SOYA

248

T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
Q U I M I C O  
P R E S E N T A

GLORIA ESTHER OCAMPO CANO

MEXICO, D. F.

1 9 7 4



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CLAS. Tesis  
ADQ. 1974  
FECHA 1974  
PROC. M-7-236

233



UNIMQA

JURADO ASIGNADO:

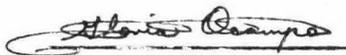
Presidente: Ing. Guillermo Cortina Anciola  
Vocal: Ing. Enrique García Galeano  
Secretario: Quim. Angela Sotelo López  
1er. Suplente: Ing. Rubén Berra García Coss  
2o. Suplente: Ing. Alejandro Garduño Torres

Sitio donde se desarrolló la Tesis:

Laboratorio de Investigación  
Cía. Química Interamericana, S. A.

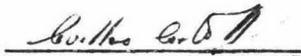
Sustentante:

Gloria Esther Ocampo Cano



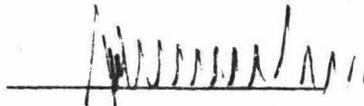
Asesor del Tema:

Ing. Guillermo Cortina Anciola



Supervisor Técnico:

Ing. Angel de Lope Calero





QUIMICA

A mis Padres

Juanita y Sergio

Con cariño y agradecimiento

por la formación que lograron darme

A mi Esposo José María

Quien con su cariño y comprensión

hizo posible la realización de esta

Tesis.

A mis Hijos

Omar, Alin . . .

A mis Hermanos

Evangelina, Alejandro y Martha.

A mis Cuñados

Maricela y Eduardo.

A mis Amigos

y Compañeros.

Agradezco

Al Ing. Angel de Lope Calero

Su colaboración en el desarrollo  
de este trabajo.

Agradezco

Al Personal de "Química Interamericana"

La ayuda que me brindó, en la realización  
de esta Tesis.

Agradezco

Al Dr. Merino y a la Srita.

Manola Aguirre la ayuda que me  
dieron en la elaboración de este  
trabajo.

INDICE

PAGINA

I	Introducción	1
II	Antecedentes	4
III	Metodos Analíticos Empleados	33
IV	Parte Experimental	45
	Resultados y Conclusiones	
V	Bibliografía	64

## INTRODUCCION

El objetivo principal de este trabajo es el de determi--  
nar las condiciones óptimas de operación en el proceso de extrac--  
ción de proteínas a partir de harina de soya y el de transfor--  
mar estas proteínas mediante una hidrólisis parcial a un produc--  
to con propiedades espumantes semejante a la albúmina de huevo.

La importancia de este proceso reside en el papel que de--  
sempeñan las proteínas de soya en la industria alimenticia ya--  
que, a pesar de provenir de una fuente de origen vegetal, son --  
capaces de reemplazar a las proteínas de origen animal como son  
las provenientes de la carne, el huevo, la leche, etc.

La soya presenta un alto contenido en proteínas de un --  
40-50% en peso y además su contenido de aminoácidos esenciales  
es alto.

Las proteínas de soya se utilizan en la industria alimen--  
ticia debido a las propiedades que suministran a los alimentos--  
que las contienen: entre las propiedades funcionales más impor--  
tantes podemos contar:

- 1) Ayudan a la formación de emulsiones.- Se utilizan en  
la industria de la carne; en la elaboración de embutidos, sal--  
chichas; en la fabricación de helados y postres congelados, --  
etc.

- 2) Para controlar la absorción de grasas en los alimentos;  
ya sea para retener ó preveer dicha absorción ejem: salchichas,

postres, embutidos, donas, "pancakes"

3) Para regular la absorción de agua; en la elaboración de macarrones, dulces, chiclosos, confituras, etc.

Además se utilizan para regular la textura, viscosidad, grado de gelificación de los diferentes alimentos.

A partir de proteínas de soya se pueden obtener productos que simulen carnes, ya sea en forma de redes, granos ó astillas mediante cierto tratamiento.

Otra propiedad muy importante que poseen estas proteínas es la capacidad que tienen de producir espumas por lo cual, se utilizan en la industria del dulce y del helado como sustitutos de la clara de huevo

[La parte experimental de este trabajo se basa principalmente en las propiedades físicas de las proteínas contenidas en la harina de soya.] Estas proteínas llamadas globulinas corresponden a un tipo determinado de proteínas, las cuales son solubles en soluciones alcalinas diluídas ó en soluciones fuertemente ácidas y precipitan a un pH determinado por lo tanto se empleará un método físico de separación.

Los resultados se valorarán en dos etapas. La primera al determinar el rendimiento del proceso y la calidad de las proteínas obtenidas ó sea la digestibilidad de las proteínas y la segunda al obtener el subproducto, debiendo determinar sus propiedades funcionales y físicas en comparación con albúmina-

de huevo seco, con huevo natural y con otros productos espumantes que se emplean en la industria del dulce y en repostería.

## II ANTECEDENTES

### 2.1. GENERALIDADES DE LA HARINA DE SOYA.-

Desde un punto de vista cronológico uno de los primeros productos obtenidos a partir de la soya fué la harina, producida simplemente moliendo el grano. La harina resultante tenía un alto contenido de grasas y su composición era aproximadamente la siguiente: (10)

TABLA 2.1. (5)

<u>CONSTITUYENTE</u>	%
Humedad	8.0
Cenizas	5.0
Grasas	25.0
Fibras	3.5
Proteínas	40.0
Carbohidratos	18.5

Debido a su composición esta harina presentaba un sabor desagradable y se descomponía fácilmente. Ello se debía al gran contenido de aceites que presentaba. Se encontró después de algunos años que podía emplearse como agente blanqueador en la manufactura de panes, por la presencia de algunas enzimas. La cantidad producida y consumida de dicha harina fué pequeña y se redujo con los años.

Otro tipo de harina de soya fué la obtenida moliendo el

grano después de haber sido tostado y dejando un alto contenido de cascarilla. Este producto fué muy empleado en la manufactura de panes y en la cocina vegetariana.

→ Al mejorar la tecnología en la fabricación de harinas se tomó en cuenta el contenido protéico de el frijol de soya y se conoció la importancia que representaba el control de la temperatura, solventes, humedad, impurezas, en dicho proceso con lo que se lograron productos de buena calidad, sabor característico pero no desagradable y de lenta descomposición. ←

En la actualidad se fabrican una gran variedad de harinas de soya entre las que encontramos: harina de soya de grasa entera, harina de soya con un contenido reducido de grasa y harina sin grasa. En ocasiones la harina de soya con un contenido reducido en grasa se presenta en el mercado en forma de hojuelas y la harina sin grasa se presenta como un polvo amarillo y también en gránulos.

→ Las harinas de soya no pueden ser consideradas entre las harinas de cereales, ya que su alto contenido protéico las hace complementos alimenticios muy importantes. Por lo mismo, se emplean en la industria del pan, pasteles e industrias afines: galletas, bocadillos, hojuelas de cereal, etc. También se usan como complementos en la preparación de sopas, cremas, ensaladas, con objeto de aumentar su poder nutritivo, cuerpo y actúan también reduciendo los efectos de gelación, emulsificando grasas

y haciéndolas más solubles. En algunos casos substituyen productos como la yema de huevo. Se emplean también en la elaboración de embutidos como carga que contribuye a mantener el nivel de proteína requerido y como agente estabilizador.

Sirve como aditivo en la fabricación de leches en polvo. En la actualidad se elaboran leches vegetales en las cuales la proteína es proporcionada por harina de soya. Existen leches infantiles a base de soya que se emplean en lactantes sensibles a leches animales.

Las hojuelas de soya se utilizan en la industria cervecera para mejorar el cuerpo y sabor de la cerveza, incrementar la estabilidad y estimular el crecimiento de la levadura.

En México el uso más común que se le dá a esta harina de soya es como alimento para ganado, pudiendo utilizarse para complementar los alimentos pobres en proteínas como son el maíz, frijol, etc.

En los países desarrollados uno de los usos más recientes de esta harina es como fuente de obtención de albúmina de soya, la que es muy parecida a la albumina de huevo y es el resultado de la hidrólisis parcial de las proteínas de la harina de soya.

La obtención de albumina de soya es uno de los principales objetivos de este trabajo. Sobre de ella se hablará posteriormente.

### 2.1.1. ANALISIS Y COMPOSICION QUIMICA DE LA HARINA.-

Las harinas de soya que se presentan en el mercado varían de acuerdo al contenido de grasas, tamaño de partículas, texturas y grado de tratamiento con calor. (10,33)

El contenido de grasas varía entre los diferentes tipos de harinas como lo muestra la siguiente tabla.

TABLA 2-II

#### ANALISIS DE LOS DIFERENTES TIPOS DE HARINAS

Harinas	Grasa	Humedad
	%	%
Grasa entera	20.5	---
Alto contenido de grasa	14.5	6.0
Contenido reducido de grasa	4.0	6.0
Sin grasa	0.6	6.0
Lecitinada	6.5	7.0

Las harinas de soya están constituidas por un 40/50% de proteínas. El principal componente protéico es la glicina.

Este no es un compuesto químico definido y su constitución es usualmente expresada en términos del contenido de aminoácidos entre los que se encuentran los aminoácidos esenciales: lisina, triptofano, treonina, isoleucina, valina, leucina metionina, fenil alanina.

Para la realización de este trabajo se va a utilizar -

harina de soya sin grasa, ya que es la que presenta un mayor - contenido de proteínas y además porque la grasa inhibe la formación de espumas a partir de albumina de soya. (29)

El análisis de una harina sin grasa, como la que se va a emplear en la realización de este trabajo, es el siguiente:

TABLA 2-111

ANALISIS Y COMPOSICION QUIMICA DE LA HARINA

Componente	g- % B.S (10)
Humedad	4.50
Proteína (N x 6.25)	50.50
Extracto etéreo	0.80
Fibra cruda	2.10
Cenizas	4.30
Proteína soluble (N x 6.25)	(42.30)
Hidratos de carbono	16.50

2.2. PROTEINA DE SOYA.-

2.2.1. Propiedades físicas, químicas y su comportamiento.

En los últimos años se han desarrollado una gran variedad de procesos para obtener proteína de soya en diferentes -- formas. (9,10,15,35)

Los elevados precios de las proteínas animales han producido un importante interés sobre las proteínas de origen vegetal.

Las proteínas de soya son más bien utilizadas por los efectos que logran, ésto es por sus propiedades funcionales -- que por sus propiedades nutricionales.

En los Estados Unidos de Norteamérica existen un gran número de compañías que fabrican alimentos, en las cuales su principal fuente protéica está representada por las proteínas de soya y además aprovechan las propiedades físicas de las proteínas en el desarrollo de sus productos.

Las diferentes formas de las proteínas de soya han sido analizadas junto con sus propiedades físicas y químicas por Wolf. (32,34)

#### 2.2.2. FORMAS EN QUE SE PRESENTAN LAS PROTEINAS DE SOYA.-

Las proteínas de soya las podemos encontrar en el mercado en diferentes formas:

2.2.2.1. Como harinas y en granos

2.2.2.2. Como concentrados

2.2.2.3. Como aislados

Esta clasificación ha sido hecha de acuerdo al contenido protéico del material.

2.2.2.1. La forma menos refinada de proteínas es como harinas y en granos. Entre diferentes muestras de harina, su contenido protéico varía del 40/50% y el contenido de proteína digerible varía dentro de un rango más amplio del 40/90 % sobre la proteína total. Esta variación depende del tratamiento-

al que haya sido sometido al frijol de soya antes de transformarlo en harina. Como pudo verse en la tabla 2-II, existen diferentes tipos de harinas, ésto es de acuerdo al contenido de grasas. Para lograr una harina con un contenido reducido de grasas o una harina sin grasa hubo que someter al frijol a una extracción y por lo tanto a un tratamiento con calor, ésto actúa directamente sobre la solubilidad de las proteínas, ya que sufren una desnaturalización.

La desnaturalización es una modificación no proteolítica de las proteínas, dando como resultado cambios en las propiedades físicas, químicas y funcionales. La pérdida de la solubilidad es quizás la evidencia física más común de una proteína la cual ha sido desnaturalizada por calor.

El contenido protéico varía en los diferentes tipos de harina como lo muestra la Tabla 2-IV

TABLA 2 - IV

## CONTENIDO PROTEICO EN LOS DIFERENTES TIPOS DE HARINAS

<u>Harinas</u>	<u>Proteína %</u>
Grasa entera	41.0 %
Alto contenido de grasa	46.0
Contenido reducido de grasa	52.5
Sin grasa	53.0
Lecitinada	51.0

Las harinas son preparadas al moler a malla 100 los resi-  
duos del frijol de soya una vez que se ha extraído su conteni-  
do de aceites. El contenido mínimo en proteínas de este mate-  
rial varía del 40 al 50 % dependiendo de su contenido de gra-  
sas. Los principales constituyentes de este material son las -  
proteínas, carbohidratos y fibra cruda.

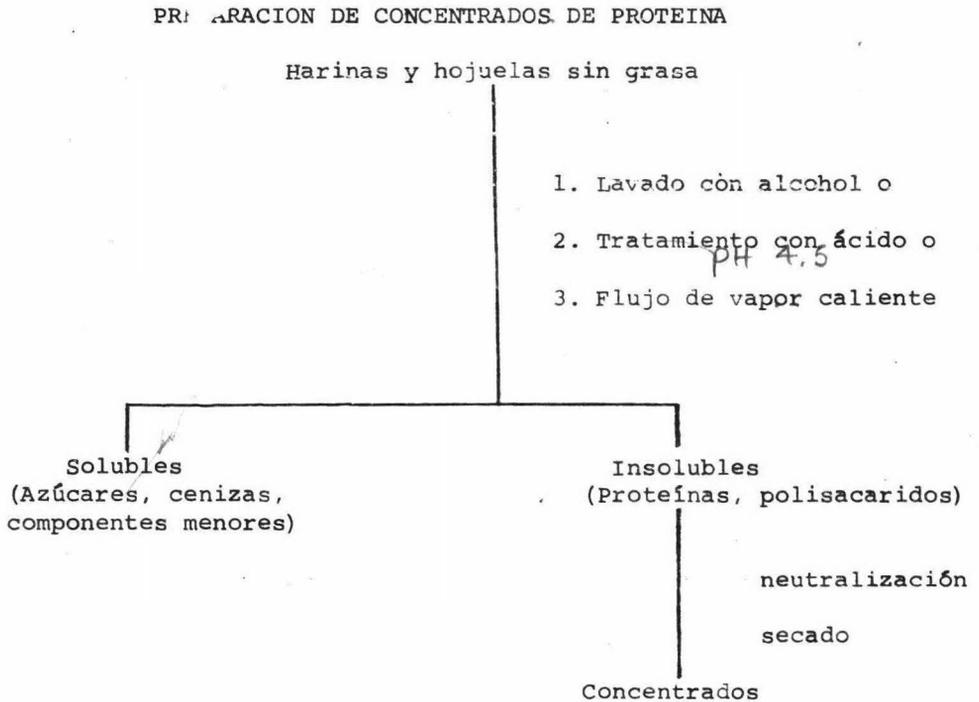
Otros constituyentes en menor proporción los represen-  
tan lípidos, isoflavonas, saponinas y otros compuestos respon-  
sables del sabor de la harina. Alrededor de la mitad de los --  
carbohidratos de la harina los representan los oligosacáridos-  
tales como la sacarosa; rafinosa; mientras que la otra mitad -  
la constituyen polisacaridos que son insolubles en alcohol (3)

## 2.2.2.2. CONCENTRADOS

Los concentrados de proteínas son más refinados que las  
harinas y contienen de 70 a 90 % de proteínas sobre base seca.

Los concentrados de proteínas son preparados a partir de harinas u hojuelas sin grasa al remover los oligosacáridos, - parte de las cenizas y otros componentes menores. Pudiendo prepararse por tres caminos tal como lo muestra la figura 2 - I.

FIGURA 2 - I



El primer método comprende el lavado con alcohol de las hojuelas o harinas sin grasa con una solución alcohólica de 60-80% ref. (17,19)

Las proteínas y los polisacáridos son insolubles en alcohol, mientras que los azúcares y otros componentes son so-

lubles y así se separan. El concentrado obtenido es neutralizado y secado.

El segundo procedimiento utilizan un medio ácido, el tratamiento se efectúa alrededor de un pH de 4.5 con objeto de remover los azúcares. Este procedimiento se basa en que a este pH las proteínas son insolubles, ya que corresponde a su punto isoelectrico. Los polisacaridos también son insolubles. Este tratamiento puede ser realizado a temperatura ambiente. El concentrado de proteína húmedo se neutraliza y posteriormente es llevado al secador (16,24)

El tercer procedimiento utiliza un tratamiento con vapor para desnaturalizar e insolubilizar las proteínas de las hojuelas o harinas, seguido con un lavado con agua para remover los azúcares y otros componentes menores (14)

Si bien los concentrados preparados por cualquiera de estos tres métodos contienen 70-90% de proteína, sus propiedades físicas difieren. (15)

Por ejemplo, los concentrados preparados con tratamiento ácido y posterior neutralización en ausencia de calor durante el tratamiento, tendrán un mayor contenido de proteína soluble que los concentrados obtenidos por tratamiento con calor. Ello se debe a la desnaturalización que sufren las proteínas.

Los concentrados tiene poco sabor en comparación con las harinas y sus propiedades funcionales son más notorias.

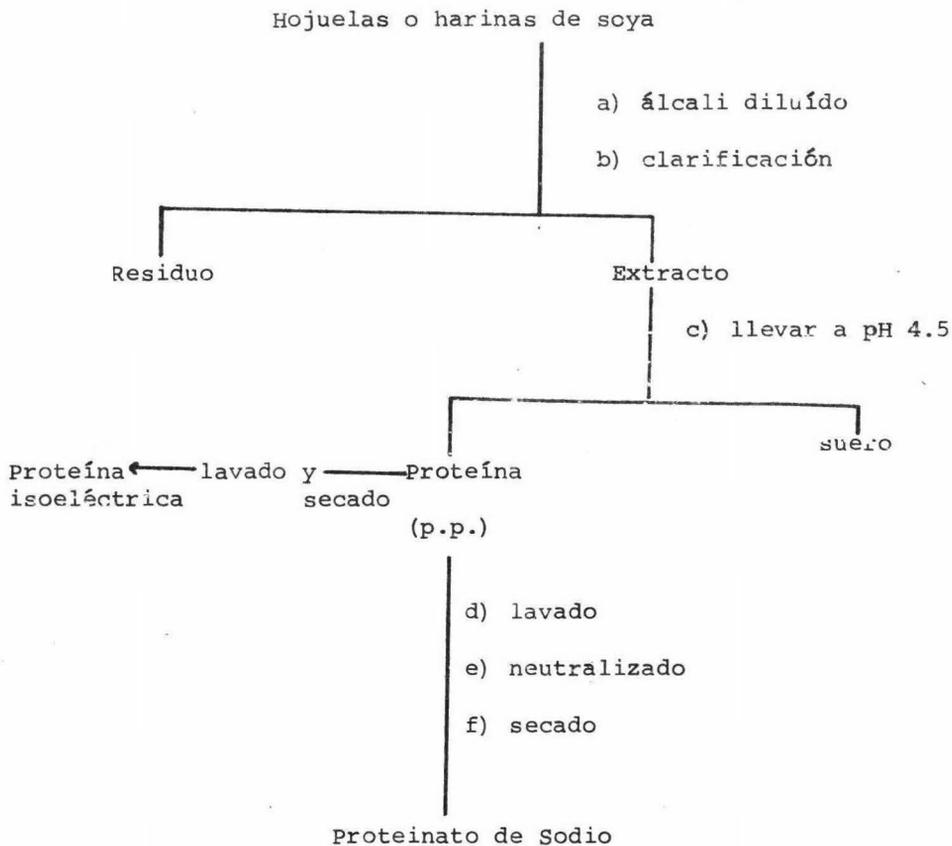
### 2.2.3. AISLADO DE PROTEÍNAS.-

La forma más refinada de proteínas de soya está representada por los aislados de proteína y se llaman así por que contienen un 90% ó más de proteínas. (15) La obtención de estos aislados se basa principalmente en la solubilidad que presentan las proteínas de soya a diferentes pH.

El método consiste en una extracción o solubilización de las proteínas en medio ligeramente alcalino, mediante agitación separando posteriormente los insolubles del extracto. El extracto así obtenido es llevado posteriormente a un pH determinado - en un rango de 4.2 - 4.6 con objeto de precipitar las proteínas. Estas son separadas por centrifugación, lavadas y posteriormente neutralizadas con sosa cáustica con objeto de obtener el proteinato de sodio correspondiente. Lo anterior queda ilustrado - en el siguiente diagrama fig. 2-2

FIGURA 2 - 2'

## DIAGRAMA DE FLUJO PARA AISLAR PROTEÍNA DE SOYA



Este procedimiento forma un compuesto de proteína só-  
dica que tiene la ventaja de ser dispersable en agua, mientras  
que la proteína isoeléctrica es insoluble en agua. El análisis  
de este producto muestra más de un 95% de proteína por el mé-  
todo de Kjeldahl en base seca y además también de 2-4% de -  
cenizas y de 3-4% de otros componentes. (15)

Estos últimos pueden ser extraídos con soluciones alcohólicas y normalmente se forman de saponinas, fosfolípidos, isoflavonas, glicosidos y compuestos no identificados. (18)

#### 2.2.4. USOS DE LAS PROTEÍNAS DE SOYA.-

Debido a que las proteínas de soya tienen diferentes propiedades funcionales pueden ser útiles en diferentes sistemas alimenticios como lo muestra la tabla 2-IV.

Estas propiedades son generalmente atribuidas a las proteínas cuando se aplican en diferentes productos; sin embargo - cuando se aplican en forma de harinas y concentrados los otros constituyentes pueden contribuir al efecto total observado. Se observa que las harinas y concentrados absorben mayor cantidad de agua que una cantidad equivalente de proteína pura.

Las proteínas de soya ayudan a la formación de emulsiones y también actúan como estabilizantes de las mismas durante los procesos subsecuentes como en el caso de producción de productos de carne.

La absorción de grasas puede ser controlada con proteína de soya.

En productos de carne, las proteínas de soya retienen grasa mientras que en donas y panqués ayudan a prevenir la absorción excesiva de grasas.

Las proteínas de soya pueden ser convertidas a materiales que parezcan masas bajo ciertas condiciones. La adición de

proteínas de soya a pastas de panes disminuyen el volumen del pan y afecta la textura; así las proteínas de soya no pueden ser usadas para reemplazar a la harina de trigo. (20)

Las proteínas de soya son hidrofílicas por lo tanto absorben y retienen agua, por ejemplo ayudan a las pastas a retener agua para conservar características manuable. En contraste la adición de harina de soya a los macarrones decrece la absorción de agua al cocinarlas.

Las proteínas de soya en productos terminados y en confecciones no solo incrementan la absorción de agua, sino que ayudan a retenerla dando como resultado un producto que se mantiene fresco durante más tiempo.

La textura de los alimentos puede ser modificada por varios caminos al usar proteína de soya. Un ejemplo simple podría ser el usar harinas y concentrados para espesar sopas y salsas.]

En alimentos de carne las proteínas de soya ayudan a la formación de un gel, que actúa como una matriz para mantener la humedad y las grasas, lo que les dá una buena consistencia.

Los productos texturizados han sido especialmente preparados al someter el aislado de proteínas a presión y calor para formar pastas y astillas, virutas, filamentos y una gran variedad de formas.

Estos productos simulan carnes para hamburguesas ya que poseen un sabor característico parecido a la carne. (36)

Las proteínas de soya pueden también ser convertidas a trozos que parezcan carnes al agregar con agitación otros ingredientes en suspensión a altas temperaturas. (21)

Existe un tercer proceso para simular la textura de carnes, es más complejo que la extrusión y que la agitación-coagulación.

En este proceso una solución concentrada de proteínas es llevada a través de un "spinneret" o dado perforado hacia un medio ácido de sal para formar una fibra de proteína, estas fibras son después tratadas con emulsificantes, sabores, grasas, colores y son manipuladas para formar productos con apariencia de carnes tales como jamón, tocino, bisteks y pollo.

Las propiedades de formar películas de las proteínas de soya son usadas en productos de carne tales como salchichas y carnes molidas mientras que las propiedades adhesivas de las proteínas de soya son usadas para unir partículas de carne en salsas, pasteles de carne, pasteles o rollos de pollo, salchichones, etc. Las propiedades adheribles y elásticas requeridas en ciertos productos pueden lograrse al adicionar productos de soya.

Control del Color.- La función de las proteínas de soya para controlar el color de los alimentos puede aprovecharse en dos formas; puesto que la harina puede aumentar el color o disminuirlo. Un ejemplo de disminución de color puede ser ejem

plificado por el uso de harina de soya desnaturalizada como un agente blanqueador en pan. Esta harina contiene una enzima, -- que oxida las grasas poliinsaturadas. Se cree que estas grasas absorben a los carotenos los cuales son amarillos, con ésto se logra un pan mucho más blanco. (13)

La harina de soya en panes también logra una apariencia brillante. Probablemente ello se deba a una posible reacción - entre las proteínas de soya y los carbohidratos del harina húmeda. En mezclas de panes, "pancakes", y "waffles" el harina de soya mejora el bronceado, así como disminuye la absorción de grasa.

Las proteínas de soya también son usadas como agentes - espumantes en ciertos tipos de dulces, pasteles y postres congelados. Para ésto se utilizan pero parcialmente hidrolizadas, ya que las proteínas solas no producen buena espuma.

Estos hidrolizados con pepsina producen espuma como la albumina de soya y presenta propiedades semejantes a la albumina de huevo.

TABLA 2 - IV

PROPIEDADES FUNCIONALES DE PROTEINAS DE SOYA EN SIS-  
TEMAS ALIMENTICIOS.-

<u>Propiedad funcional</u>	<u>Forma de la proteína</u>	<u>Sistema alimenticio</u>
Formación de emulsiones	H.C.A.	Salchichas, sala mi, embutidos. Panes, pasteles y sopas.
Estabilizador de emul- siones.	H.C.A.	Productos batidos postres congela- dos, salchichas, salami, salsas.
Absorción de grasas		
Promotor	H.C.A.	Salchichas, sala mi, embutidos, patés.
Prevención	H.A.	Donas, "pancakes"
Absorción de agua		
Controlar	H.C.	Panes y pasteles Macarrones, dul- ces, chiclosos, confituras.
Retención	H.C.	Panes y pasteles.
Textura		
Viscosidad	H.C.A.	Sopas, salsas, -
Gelación	A.	chili Carnes mo-
Formación de astillas y granos	H.	lidas simu. Simular carnes
Formación de redes	H.A.	Simular carnes Simular carnes

<u>Propiedad funcional</u>	<u>Forma de la Proteína</u>	<u>Sistema alimenticio</u>
Formación de fibras	A.	Salchichas y salami
Formación de películas	A.	Salchichas y salami
Adhesión	C.A.	Embutidos, carnes - frías, patés, rollos, de carne, jamones. Carnes deshidratadas
Cohesión	H.A.	Productos horneados Macarrones Carnes simuladas
Elasticidad	A.	Buenos horneados Carnes simuladas
Control del color		
Blanqueado ,	H.	Panes
Bronceado	H.	Panes, "pancakes" Y waffles.
Aereación	A.	Productos espumosos. Dulces, confituras, cremas batidas.

H.A.C.- Representan harinas, aislados de proteínas y concentrados respectivamente.

#### 2.2.5. PROPIEDADES FISICAS Y QUIMICAS.-

Si bien los productos de proteína de soya imparten propiedades funcionales a los alimentos, los aspectos físicos y químicos que envuelven esta funcionalidad son todavía confusos. En la actualidad no existen pruebas físicas o químicas que - -

puedan predecir como se comportarían las proteínas de soya en un sistema alimenticio dado, antes de efectuar las pruebas en el producto. Johnson (11) ha enfatizado recientemente que el único camino real que existe para determinar tal comportamiento es el de incorporar los ingredientes dentro de la fórmula y confeccionar el producto deseado. Sin embargo, un entendimiento de las propiedades físicas y químicas de las proteínas de soya ayuda el uso de las proteínas en los alimentos.

#### 2.2.6. COMPOSICION DE AMINOACIDOS.-

Una propiedad química importante de las proteínas de soya es su composición de aminoácidos que por otra parte determina el valor nutritivo de las proteínas. La Tabla 2-V enumera la composición esencial de aminoácidos para las tres diferentes presentaciones de las proteínas. La degradación de las proteínas ocurre al transformar las harinas en concentrados y aislados.

TABLA 2 - V

CONTENIDO DE AMINOACIDOS ESENCIALES EN LAS PROTEINAS DE SOYA.-

<u>Aminóacido</u>	<u>Harina</u> g. de aminoácidos/16 g. de Nitrógeno
Lisina	6.9
Metionina	1.6
Cistina	1.6
Triptofano	1.3
Treonina	4.3
Isoleucina	5.1
Leucina	7.7
Fenilalanina	5.0
Valina	5.4

Entre los diferentes tipos de proteínas provenientes de cereales el aminoácido que es de interés principal es la lisina. Las proteínas de soya son altas en lisina, ésto las hace buenos suplementos para los cereales puesto que éstos tienden a ser bajos en este aminoácido.

Por otra parte la metionina y el triptofano son los primeros aminoácidos limitantes en las proteínas de soya, y su limitación debe ser considerada cuando las proteínas son agregadas más bien con propósitos nutricionales que por sus propiedades funcionales.

### 2.2.7. SOLUBILIDAD DE LAS PROTEINAS.-

Una propiedad física importante de las proteínas de soya es su solubilidad. La mayoría de las proteínas de soya son globulinas. Estas proteínas son solubles en soluciones diluídas -- con pH arriba o abajo de sus puntos isoeléctricos.

La relación que existe entre el pH y el grado de extracción de las proteínas a partir de harina de soya sin grasa se muestra en la Figura 2 - 3. (28)

El punto isoeléctrico de las proteínas de soya esta en un rango de pH de 4-5.5

Este pronunciado efecto del pH sobre la solubilidad explica la inconsistencia aparente en el uso de agua para extraer las proteínas y su clasificación como globulinas. Las globulinas son normalmente consideradas como una clase de proteínas insolubles en agua a sus puntos isoeléctricos pero solubles en -- soluciones salinas al mismo pH. El comportamiento de solubilidad como lo muestra la figura 2 - 3, es esencialmente para el estudio de cómo aislar la proteína. Las proteínas son extraídas cerca del punto neutro o sobre de él y separadas del extracto - al ajustar su pH a 4.5

Un producto soluble es mucho más fácil de formular en ciertos alimentos, es por eso que para solubilizar las proteínas extraídas se neutralizan con hidróxido de sodio con objeto de obtener el proteinato de sodio correspondiente, también existen los proteinatos de calcio y de potasio. (15)

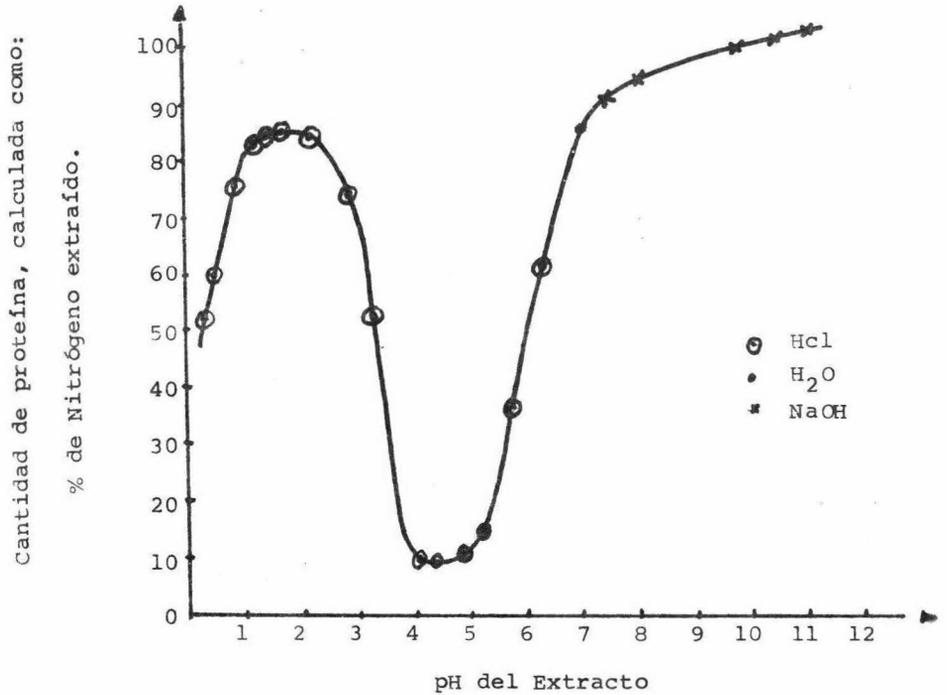


Fig. 2 - 3.- Grado de extracción de las proteínas a partir de harina de soya sin grasa en función del pH.

La insolubilidad en la región isoeléctrica puede ser -- eliminada al hidrolizar parcialmente la proteína con pepsina - o papaina a un peso molecular más bajo que el de los polipeptidos originales. Tales hidrolizados son usados primariamente como agentes espumantes, en dulces, repostería, panadería, cremas para decorar, pasteles y merengues.

Otro factor importante que influye sobre la solubilidad de las proteínas es el tratamiento con calor. La curva de grado de extracción (Fig. 2-3) es característica en una harina -- que ha recibido un mínimo de tratamiento con calor al separar el solvente de las hojuelas después que se ha realizado la extracción de aceites. Se sabe que si la harina es tratada con vapor, las proteínas se tornan insolubles o se degradan. Por ejemplo, 10 minutos de tratamiento con vapor reduce el grado de extracción de la proteína en la harina de un 80% a 20%. (6)

Las harinas y granos de soya tienen un sabor característico no aceptable en muchos alimentos. Un método para reducir el sabor es tratar las muestras con vapor.

Este método tiene la desventaja de que el tratamiento con calor además de insolubilizar las proteínas las degrada y disminuyen las propiedades funcionales de las mismas; de ahí la necesidad de controlar la temperatura en el proceso.

Con objeto de encontrar el producto adecuado para diferentes alimentos, la industria produce una serie de harinas y

granos tratados a diferentes grados. La cantidad de tratamiento con calor se mide a través de determinar la desnaturalización de las proteínas. Esta medición se realiza tratando las muestras con agua con objeto de solubilizar el nitrógeno bajo condiciones específicas cuantear por el método de Kjeldahl.

El resultado se expresa como el % del nitrógeno total en la muestra. Este porcentaje es el índice de solubilidad del nitrógeno (NSI)

Tal como es referido en AOAC (4). Debe enfatizarse que este método es empírico y que los investigadores de alimentos deben determinar el rango de nitrógeno soluble de la harina, con la finalidad de obtener óptimos resultados.

De lo anterior podemos concluir lo siguiente:

El breve resumen presentado sobre las propiedades físicas y químicas de las proteínas de soya, enfatiza la complejidad de estos materiales y sugiere que pueden seguir un gran número de reacciones en los sistemas alimenticios.

Aunque muchos progresos se han hecho al tratar de explicar la química de las proteínas, todavía no es posible explicar sus propiedades funcionales sobre bases científicas.

Aprovechando estos conocimientos se va a tratar de obtener un subproducto a partir de las proteínas de soya que tenga propiedades y características semejantes a la albumina de huevo esto se logra realizando una hidrólisis enzimática sobre las proteínas.

### 2.3. PRODUCTO ESPUMANTE

Este producto espumante como ya se dijo en párrafos anteriores es el resultado de una hidrólisis parcial sobre las proteínas de la soya y su composición y propiedades son semejantes a las de la albúmina de huevo. (7)

Uno de los primeros trabajos que hablan sobre la existencia de este producto fué realizado por Betty. Watts (30)

Ella trabajó a partir de harina de soya, la cual fué tratada primeramente con solventes con objeto de eliminar la grasa. Con ello preparó una suspensión en agua y observó que al batirlo producía una espuma blanca semejante a la obtenida a partir de clara de huevo. Realizó las pruebas a diferentes concentraciones y observó que el extracto espumaba mejor a concentraciones de 7 a 10%.

También hizo notar que las harinas adquiridas en el mercado no presentaban estas propiedades espumantes. Esto se debió principalmente a dos factores; primero, al contenido de grasas en la harina, las cuales inhiben la formación de espumas; y segundo, a la desnaturalización que sufren las proteínas al procesar la harina con objeto de eliminarle olor, color, y sabor.

Después de realizar varias pruebas, Betty. Watts observó que el extracto espumaba mejor bajo las siguientes condiciones:

- a) Extracción a concentración 7 - 8% en agua
- b) Temperatura de batido a 50°C
- c) Tiempo de batido 8 min.
- d) pH de batido menor de tres o mayor de seis
- e) La adición de cloruro de sodio mejoraba la espuma

Se recomendó este agente espumante por las ventajas que presentaba sobre el huevo y que se resumían en las siguientes: fácil de transportar, precio bajo, fácil de mezclar con un gran número de líquidos, tales como leche, jugos de frutas, extractos de carne, etc. y además era un producto de baja contaminación bacteriológica.

Dos años más tarde Betty Watts y Ulrich (31) aislaron el principio activo de estos extractos de harina de soya que presentaban propiedades espumantes y encontraron que el extracto neutralizado y seco representaba cerca del 30% en peso de la harina. Con ésto prepararon soluciones a concentraciones del 10 al 15% utilizándolas como substituto del huevo en la confección de merengues, dulces, souffles. Los productos obtenidos no mostraron diferencias con los preparados a partir de huevo.

#### 2.3.2. METODOS GENERALES DE OBTENCION.-

La mayoría de los métodos de obtención de este producto se basan en la hidrólisis enzimática con papaina o pepsina sobre las proteínas previamente extraídas de la harina. (12,23, 24,27,29)

El método general de extracción de las proteínas basándose en sus propiedades puede ser el siguiente: (Fig. 2-3)

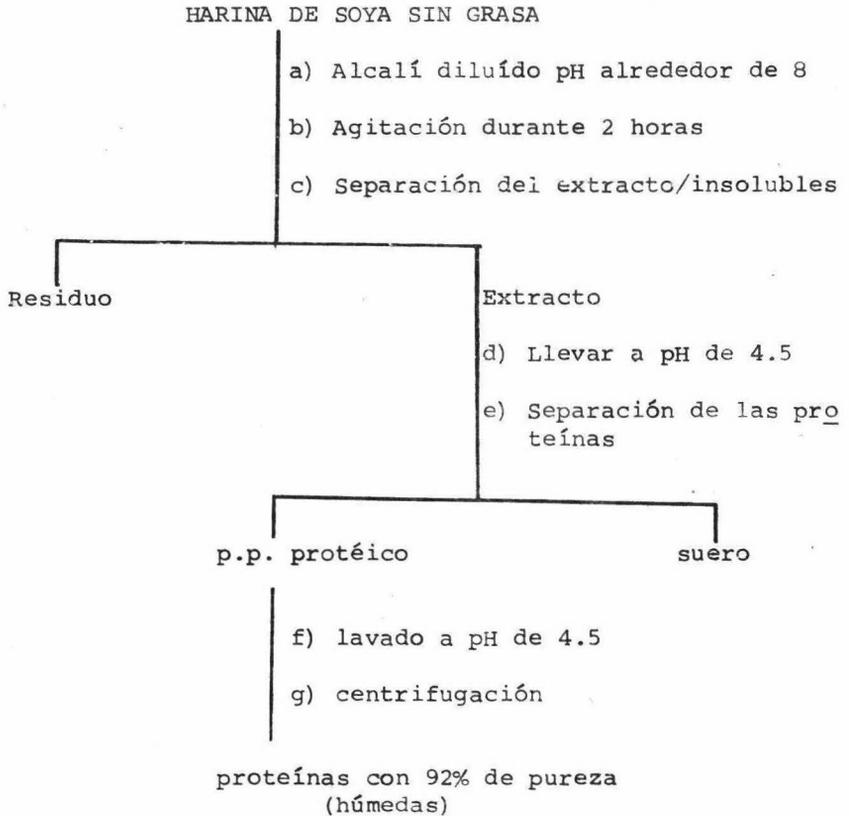


Fig. 2 - 3 Diagrama de flujo para obtener proteína de soya húmeda.

Una vez aisladas las proteínas a partir de la harina de soya sin grasa se efectúa la hidrólisis parcial enzimática con pepsina o papaína bajo determinadas condiciones como lo muestra la Fig. 2 - 4.

FIGURA 2 - 4

DIAGRAMA DE FLUJO PARA OBTENER UN PRODUCTO CON PROPIEDADES ESPUMANTES.-

Proteínas Húmedas a pH de 4.5

- a) Suspensión a concentración de 10 = 15%
- b) Llevar el pH a 2 con Hcl
- c) Adición de pepsina a concentración 0.4% de actividad 1:10 000.
- d) Temperatura de 35 - 40°C
- e) Agitación de 1 - 2 horas

Proteínas Hidrolizadas en Suspensión

- f) Llevar a pH de 7 con sosa cáustica
- g) Aumentar la temperatura con objeto de inactivar la enzima, - 90°C.
- h) Llevar al secador el producto.

Producto con propiedades espumantes.

Como se puede observar en el diagrama del proceso, el precipitado de proteínas lavadas se lleva a una suspensión a concentración de 10% a un pH de 2, que es precisamente el pH a el cual presenta su máxima actividad la pepsina. La concentración de la enzima que se recomienda para esta hidrólisis parcial es de 0.4% de actividad 1:10 000. La reacción se lleva a temperatura de 35 - 40°C y esta suspensión es sometida a agita

ción durante 1 - 2 horas, (el tiempo óptimo de reacción habrá que verificarlo al desarrollar el proceso, pues los autores difieren en el tiempo de hidrólisis enzimática.)

posteriormente esta proteína parcialmente hidrolizada se neutraliza a pH de 7 con sosa cáustica y se lleva al secador. Se obtiene un producto puro o de alto valor nutritivo y con propiedades funcionales espumantes. (25, 26)

Se obtiene un polvo blanco que se mezcla con agua a concentraciones de 5 - 10% para producir una buena espuma en la preparación de diferentes alimentos (dulces, chiclosos, merengues, pasteles, etc.)

### 2.3.3. PROPIEDADES Y USOS.-

La proteína hidrolizada, debido a sus propiedades espumantes, se emplea como sustituto del huevo en la confección de una gran variedad de dulces, postres, merengues, souffles, pasteles, cremas para decorar y dulces del tipo nougats, frapés, etc. En general se emplea en la industria del dulce en aquellas formulaciones que requieran de un agente espumante.

Además de sus propiedades espumantes, este producto obtenido por tratamiento enzimático con con pepsina, presenta un alto valor nutritivo y la hace un buen alimento.

### III METODOS ANALITICOS EMPLEADOS

Los metodos utilizados en este trabajo fueron para determinar lo siguiente:

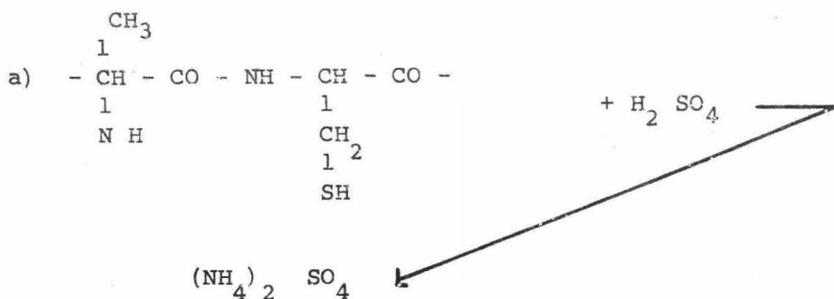
- % de Nitrogeno total
- % de Nitrogeno soluble
- % humedad
- % Contenido de Grasas
- % Cenizas
- % Fibra cruda
- Calidad del producto

#### 3.1. Determinación de Nitrógeno (4)

Fundamento.- Esta determinación se basa en la digestión de la muestra por medio de ácido sulfúrico, para asegurar la conversión de el nitrógeno proteico a un producto intermedio como es el sulfato de amonio. Esta operación se efectúa normalmente con la adición de un catalizador (reactivo de selenio-Merck) y de un agente elevador de temperatura.

A la solución así producida se adiciona una solución - de sosa al 40%; lo cual ocasiona una liberación de amoniaco, éste se recoge en una solución absorbente donde es determinado por valoración cuantitativa volumétrica.

La reacción que se efectua es la siguiente:



### 3.1.1. EQUIPO.-

Bola de Kjeldahl para destilación.

Refrigerante de 40 cm. de longitud

Matraz Erlenmeyer de 500 c.c.

Bulbo de Kjeldahl

Mechero, soporte y pinzas

### 3.2.1.3. Reactivos.-

Acido sulfúrico de 98 %

Reactivo de Selenio Merck

Solución de Sosa Cáustica al 40%

Granalla de Óxido de zinc cubierta con parafina

Indicador verde de bromocresol

Acido bórico al 3 %

Agua destilada

Acido clorhídrico 0.1 Normal

### 3.1.2. Digestión.-

Todos los reactivos registrados deben estar libres de nitrógeno o nitratos, de estar presentes debe procederse a -

su reducción con polvo de zinc o ácido salicílico.

Es importante el efecto de la temperatura sobre la digestión para que se realice completa y rápida. La adición de sulfato potásico al ácido sulfúrico concentrado aumenta el punto de ebullición. El aumento de la temperatura hasta 360/410°C tiende a acelerar el proceso de digestión.

### 3.1.3. TIEMPO DE CLARIFICACION.-

Es el tiempo necesario para que la mezcla sometida a digestión se vuelva casi incolora o transparente.

La clarificación no debe considerarse como una indicación de que la digestión se ha completado, aunque en la mayoría de los casos pueda ser así. La disolución y oxidación de toda la materia orgánica no siempre coincide con la conversión de nitrógeno protéico a sulfato de amonio. Después de su clarificación, la mezcla debe continuar hirviendo durante un cierto tiempo. La duración del mismo sólo puede ser determinada experimentalmente, ya que cada compuesto es distinto.

### 3.1.4. TECNICA.-

En el matraz de Kjeldahl se disgregan de 0.1 a 2 g. de muestra en el caso de harinas, cabadas, malta, leche y levaduras; y de 0.1 a 0.5 g. en sustancias que contengan más del 40% de nitrógeno.

Se agregan 6 g. de la mezcla de reactivo Selenio Merck

y 20 ml. de ácido sulfúrico concentrado.

Se empieza a digerir de 5 - 6 mins. con flama pequeña de 1.5 cm. de altura y después apróximadamente 6 mins. con flama fuerte y caliente, cuidando de eliminar hasta los últimos residuos de substancia carbonizada. Cuando el color del líquido es verde limpio, se sigue calentando de 3 - 10 mins. con llama pequeña, (usar tela de asbesto)

Una vez enfriado el líquido de disgregación lo bastante para que el matraz pueda ser tocado con la mano por la base -- sin quemarse, se diluye lentamente con 200 ml. de agua destilada fría, dejándola caer por las paredes del matraz. Después se añaden unas granallas de óxido de zinc como catalizador y se -- agregan 80 ml. de sosa cáustica al 40% haciéndola resbalar por las paredes del matraz, sin agitar, con objeto de formar dos -- capas y evitar que se desprenda el amoníaco.

Se conecta el aparato de destilación Kjeldahl y el destilado se recoge en 80 ml. de ácido bórico al 3%. Se destilan -- apróximadamente 250 ml. en el matraz Erlenmeyer.

Al destilado que contiene el amoníaco se le agregan 5 - gotas de indicador verde bromocresol y se titula con ácido - - clorhídrico 0.1 N

El cambio del indicador es de azul a incoloro y de incoloro a rosa. (A.O.A.C.)

3.2.1.7. CALCULOS.-

$$\% N = \frac{\text{ml. de HCl} \times N \text{ HCl} \times \text{Meq. Nitrógeno} \times 100}{\text{peso muestra}}$$

Meq Nitrógeno  $\cong$  0.014;

% Proteínas = % Nitrógeno  $\times$  6.25

3.2. Determinación de Índice de Solubilidad del Nitrogeno (NSI).-

Definición: Este método determina el nitrógeno soluble - en productos de soya. Es aplicable en granos de soya, moliendas finas, hojuelas, harinas, harinas sin grasa y avena de soya.

Es importante esta determinación, ya que por medio de - ella podemos conocer el % de nitrógeno que podemos extraer de - nuestra materia prima.

3.2.1. APARATOS.-

Vaso de precipitados de 400 ml.

Probeta graduada de 200 ml.

Agitador magnético o mecánico

Matraz volumétrico de 250 ml.

Balanza de precisión (0.01 g)

Baño de vapor para mantener temperatura de 30°C

Centrifuga

Aparato para análisis de Kjeldahal

Matraz de 100 ml.

Pipetas de 25 ml.

Embudos, fibra de vidrio

### 3.2.2 Reactivos.-

Agua destilada

Reactivos analíticos para el método de determinación de proteínas según Wieninger. (3.2.1.2)

### 3.2.3. Preparación de la Muestra.-

Si la muestra no es una harina de soya fina, que pasa - por lo menos el 95% la malla 100, se deberá moler en un mortero hasta obtener una molienda fina. En caso de que la muestra - esté muy grasosa el 80% debe pasar a través de malla 80 y el -- 90% a través de malla 60.

Para prevenir una descomposición mezclar igual cantidad - con hielo seco para que no se eleve mucho la temperatura al -- moler.

### 3.2.4. Procedimiento.-

Pesar 5 g. de la muestra en un vaso de precipitados de - 400 ml. Agregar 200 ml. de agua destilada a 30°C, agregarla poco a poco y dispersarla con un agitador, teniendo cuidado de -- que en el agitador no se queden partículas de la harina. Agitar la muestra a 120 rpm con un agitador mecánico durante 2 horas - a 30°C con el vaso precipitado sumergido en el baño de agua. - Transferir la mezcla a un matraz volumétrico de 250 ml., teniendo cuidado de pasar cuantitativamente el contenido del vaso de precipitados.

Al matraz volumétrico agregarle una o dos gotas de antiu

espumante diluido en agua destilada y aforar.

Dejar reposar durante unos minutos y decantar 40 ml. en un tubo de centrifuga. Centrifugar 10 mins. a 1.500 rpm, filtrar la capa sobrenadante a traves de un embudo con fibra de vidrio. Tener mucho cuidado de que los sólidos centrifugados no se pasen a traves del filtro.

Medir 25 ml. del líquido claro, depositarlos en un matraz de Kjeldhal. Proceder a la determinación de nitrógeno proteico según el método anterior.

### 3.2.5. CALCULOS.-

% Nitrógeno soluble en agua (% N<sub>s</sub> H<sub>2</sub>O)

$$\% N_{(s H_2O)} = \frac{\text{ml. HCl} \times N \text{ HCl} \times \text{Meq. Nitrógeno} \times 100}{\text{peso muestra}}$$

% Indice de solubilidad de Nitrógeno = (N SI)

$$\% \text{ NSI} = \frac{\% \text{ Nitrógeno (s H}_2\text{O)} \times 100}{\% \text{ Nitrógeno total}}$$

### 3.3 Metodos para determinar el % de Humedad.

Pesar alrededor de 5 g de muestra en una capsula pesada y fría, previamente calentada a  $130 \pm 3^\circ$ . Colocar la muestra en la estufa a una temperatura de  $130 \pm 30$  durante 2 horas. Transferir la muestra al desecador y pesar la cápsula tan pronto -

alcanze la temperatura ambiente. Reportar el residuo de harina como solidos totales y la perdida como humedad neta (método indirecto)

### 3.4 Determinacion del contenido de grasas.

Poner a peso constante una cantidad determinada de harina.

Pesar 2 muestras de 2 - 5 g. aproximadamente de harina - colocarlas en camisa con porosidad tal que permita el paso rapido del eter anhidro, extraer con eter anhidro, extraer con eter a un promedio de 150 gotas por minuto durante 5 horas.

Evaporar el solvente. Enfriar la muestra a temperatura ambiente y pesar.

Los Residuos de eter son dificiles de detectar por el olfato es por eso que se recomienda calentar durante 1 hora ó más hasta a peso constante.

### 3.5 % de Cenizas.

Pesar 2 g. de muestra dentro de un crisol de porcelana y colocarlo en la mufla a una temperatura de 600°C.

Mantenerlo a esta temperatura durante 2 horas con control automático. Transferir el crisol al desecador, dejar enfriar y pesar. Reportar % de cenizas al primer lugar decimal.

### 3.6 % Fibra Cruda.

Se extrae con eter etílico 2 g de la harina seca. Se transfiere el residuo, juntamente con 0.5 g de asbesto, a un frasco de erlenmeyer de 500 ml.

Se agregan 200 ml. de solución sulfurica (ácido sulfúrico 0, 255 N) y se conecta a un refrigerante para hervir a reflujo.

Se calienta de modo que la ebullición se produzca en no más de 1 minuto y se mantiene durante 30 minutos. Se rota el frasco frecuentemente, hasta que la muestra esté completamente humectada.

Al cabo de ese tiempo se filtra el contenido del frasco de erlenmeyer, a través de tela, por embudo a un frasco kitasato. con ayuda de succión, lavando luego con agua hirviente hasta la reacción neutra del líquido de lavado. Arrastrar luego el residuo de la hidrolisis ácida el asbesto retenido en la tela, mediante 200 ml. de solución hirviente de Na OH (1.25 g de Na OH /100), al frasco original. Conectar al frasco de erlenmeyer el condensador para reflujo y llevar a ebullición que se mantiene durante 30 minutos. Se filtra por crisol de Gooch tarado (preparado con asbesto, lavado y calcinado)

Se lava con  $H_2O$  destilada hirviente y luego con 15 ml. de alcohol, se seca a  $110\text{ }^\circ\text{C}$  hasta peso cte. se calcina luego de pesar, en mufla ó con mechero mecker ( $700^\circ\text{C}$ ) hasta eliminar la materia carbonosa (lleva unos 20 min), se enfría en desecador y se pesa. La diferencia de peso se refiere a 100 y se expresa como ("fibra cruda" por ciento)

### 3.7. METODOS PARA VALORAR LAS CONDICIONES OPTIMAS DE EXTRAC- CION. -

Es importante efectuar el análisis de los extractos ya que por medio de ellos se conoce el rendimiento de los métodos de extracción de proteínas que se emplean.

Al efectuar las diferentes extracciones bajo determinadas condiciones, se debe analizar el contenido de nitrógeno en los filtrados resultantes al separar los insolubles. Los métodos que se emplean son el 3.2.1. y 3.2.2.

Las determinaciones se hacen empleando soluciones afora das a diferentes concentraciones.

### 3.8. METODOS PARA VALORAR LAS CONDICIONES OPTIMAS DEL HIDROLI- ZADO .-

Estos métodos se aplican sobre la segunda parte del pro ceso y que consiste en la hidrólisis parcial de los polipépti- dos. Las condiciones óptimas del hidrolizado serán aquellas ba jo las cuales obtengamos un producto de gran poder espumante, estable y de buen aspecto.

Se tomarán muestras de 100 ml. a diferentes tiempos de hidrólisis con la enzima y cada muestra se batirá durante 8 mins. A las espumas que produzcan se les determinarán las si- guientes características:

### 3.8.1. VOLUMEN DE LA ESPUMA.-

Este se determinará al llevar cuantitativamente la espuma producida por los diferentes extractos, a un vaso de precipitados graduado, con objeto de determinar su volumen, Deben observarse el olor, el color, si la espuma es abierta o cerrada y si se mantiene dentro del recipiente que la contiene al invertirlo.

### 3.8.2. DRENADO O ESTABILIDAD DE LA ESPUMA.-

Es importante conocer el drenado de la espuma ya que éste determina la estabilidad de la misma. La determinación consiste en conocer los mililitros que se drenan de la espuma en un determinado tiempo.

El tiempo se empieza a contar al finalizar los 8 mins. de batido.

Esta determinación no se basa en ningún método analítico registrado, sino que simplemente ha sido improvisado con objeto de auxiliar este proceso.

Para realizar dicha determinación se requiere el siguiente material:

1 malla del 30 de acero de 20 x 20 mm.

1 probeta graduada

• 1 embudo de cola corta

1 vaso de p.p. de 250 ml.

Anillo, pinzas, soporte.

Técnica: Se coloca el embudo de vidrio sobre la probeta

graduada y arriba de éstos se fija la malla de acero sobre un anillo. Se llena el vaso de p.p. con la espuma producida y se invierte sobre la malla de acero. Se toma el tiempo y se observa el derrame de la espuma contra el tiempo transcurrido.

Para que la determinación anterior anterior tenga algún valor, debe ser comparada con un estándar obtenido con clara de huevo batida.

Así mismo para poder valorar el volumen producido por el hidrolizado habrá la necesidad de compararlo con la espuma producida por albúmina de huevo y otros productos espumantes que se encuentran en el mercado tales como Hyfoam, albúmina de -- huevo seca, proteínas de pescado, huevo fresco, etc.

Con este capítulo se completan las bases para realizar este proyecto, pues se conocen los métodos generales de extracción, los métodos de hidrólisis de las proteínas, así como los métodos analíticos requeridos.

## IV EXPERIMENTAL

### RESULTADOS Y CONCLUSIONES

El desarrollo experimental de este trabajo tuvo como base una serie de experimentos realizados por un gran número de investigadores, como lo muestran los capítulos anteriores.

El proceso se realizó en 4 etapas principalmente:

4.1 Analisis bromatológico de las harinas.

4.2 Extracción de las proteínas a partir de la harina.

4.3 Hidrólisis o tratamiento enzimático de las proteínas obtenidas como paso intermedio en la obtención del producto -- con propiedades expumantes.

4.4 Valoración del producto obtenido.

#### 4.1 ANALISIS BROMATOLOGICO DE LAS HARINAS

Se analizaron diferentes muestras de harina de soya sin grasa, con objeto de determinar el contenido de proteínas grasa, proteína soluble, humedad, fibra cruda.

Obteniendose los siguientes resultados (tabla 4-1)

TABLA 4-5 ANALISIS DE HARINAS

Muestra	Proteina g. % (N <sub>2</sub> x 6.25)	Grasa	Proteina (b) soluble g%	Humedad g. %	Fibra cruda g. %
1	50.50	0.60	45.2	4.5	4.6
2	49.00	0.67	54.3	4.3	3.9
3	44.52	0.94	40.1	4.3	4.7
4	50.92	0.61	54.7	3.9	4.1
5	49.42	0.66	47.4	4.7	4.3
6	48.57	0.80	42.1	4.6	4.5

(a) DETERMINADO POR EL METODO 3.2.1

(b) DETERMINADO por EL METODO 3.2.2. a pH 6.5

	CENIZAS	HIDRATOS DE CARBONO
1	6.7	31.10
2	6.2	35.93
3	7.4	38.14
4	6.3	34.17
5	6.6	34.32
6	7.1	34.43

El % de proteínas soluble esta informado en relación - al % del total de proteínas como puede observarse en los resultados, solamente alrededor de un 40 - 50 % del total de proteínas en soluble, esto puede deberse principalmente a dos factores:

a) A la desnaturalización sufrida por las proteínas ó

b) A que el método para determinar proteína soluble de acuerdo con la A.O.A.C. (4) no sea efectivo para el caso de la soya por el tipo de proteínas que contiene.

Ya que esta determinación se realiza en agua a un pH -- aproximado de 6.5. De acuerdo con la curva de solubilidad de -- las proteínas de soya (fig. 2-3) a este pH existe un punto de -- inflexión en la curva es decir; es un punto en el cual el grado de extracción de las proteínas puede llegar a un mínimo ó a un máximo por lo cual no es un pH recomendable para trabajar.

4.2 Extracción de las proteínas a partir de la harina.

En este proceso se tomaron en cuenta las siguientes variables.

- a) concentración de la harina en la Suspensión
- b) pH al cual se debe realizar la extracción
- c) temperatura de extracción
- d) tiempo de extracción
- e) metodo de separación de los insolubles del extracto
- f) pH de precipitación de las proteínas
- g) método de separación de las proteínas precipitadas.

Este proceso fué resumido en el siguiente diagrama.

El diagrama del proceso de extracción tomando en cuenta las variables anteriores lo representa la Figura 4 - 1

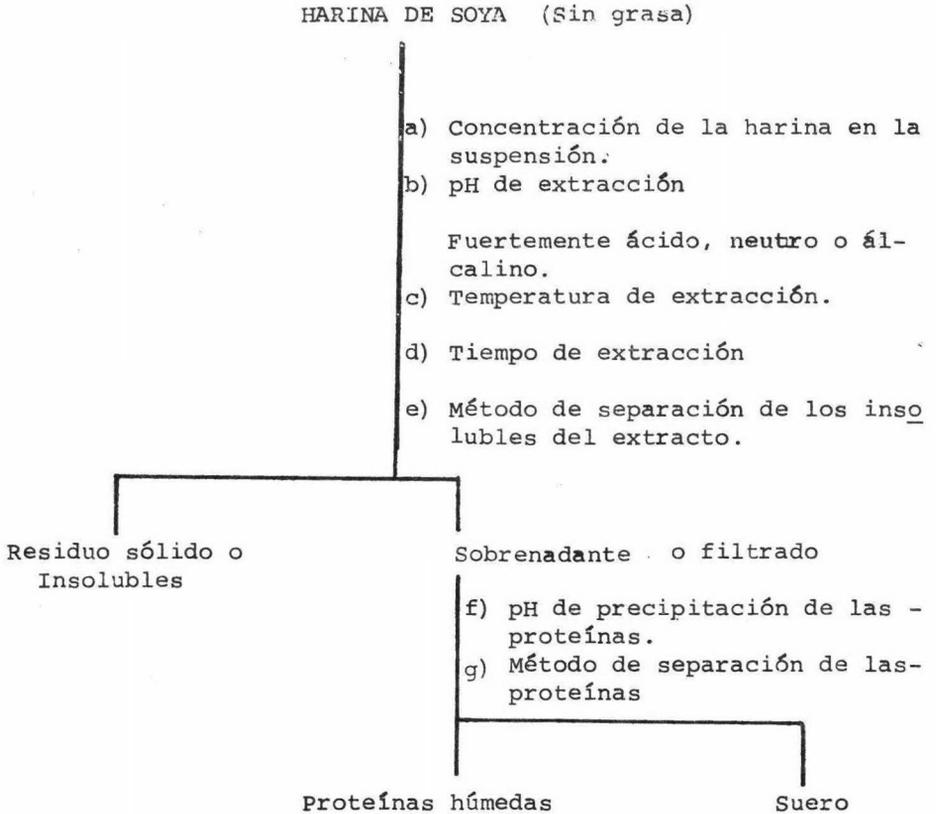


Figura 4 - 1 .- Variables que intervienen en el proceso para aislar las proteínas de soya.

De acuerdo con la Importancia que tienen estas variables dentro del proceso de extracción se modificaron hasta encontrar las condiciones optimas de extracción.

a) pH de extracción

Se tomó en cuenta la curva de solubilidad de las proteínas y se realizaron extracciones a pH 1, 2, 4, 7, 9, 11, 13. Con objeto de comparar los resultados obtenidos.

Se utilizaron como reactivos principales el ácido clorhídrico y el hidróxido de sodio para llevar las suspensiones a diferentes pH

Antes de realizar las extracciones a diferentes pH se eligió el método adecuado de separación de insolubles.

Se realizaron diferentes pruebas obteniéndose lo siguiente:

a) Separación por filtración.- No es recomendable este método, debido a que al poner en suspensión la harina absorbe una gran cantidad de agua y se forma una masa espesa difícil de filtrar. Se puede mejorar la filtración empleando como filtro ayuda celite y filtrado al vacío, pero no resulta muy conveniente el método.

b) Separación por clarificación.-

Se hace circular la suspensión a través de una serie de vasos concéntricos en los cuales debido a la existencia de una fuerza centrífuga se van reteniendo los sólidos en las paredes de los vasos y el líquido clarificado circula hasta lle-

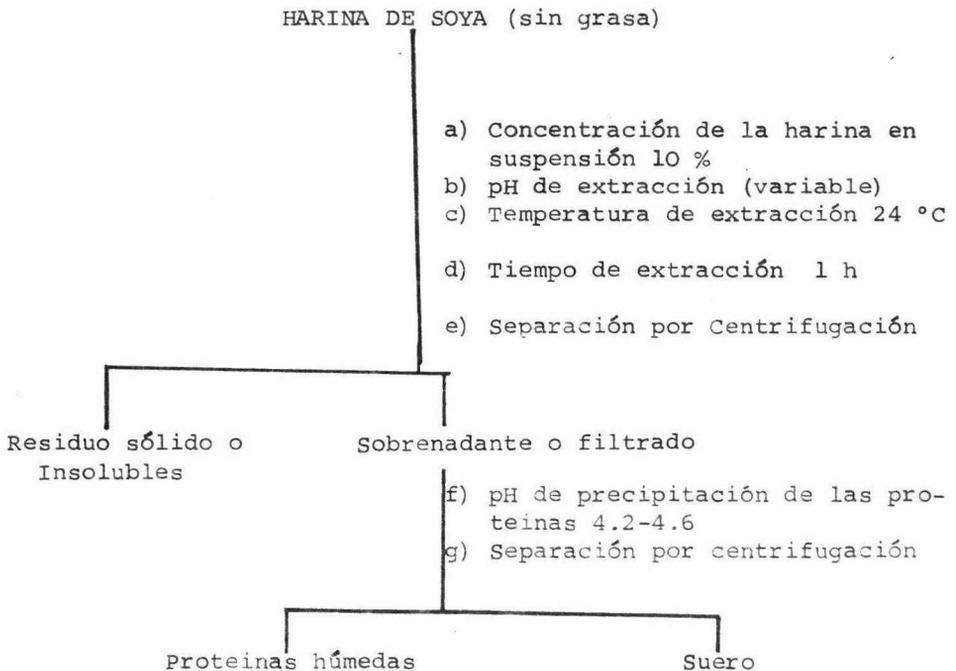
gar al exterior.

Este método es mejor que el anterior pero presenta el -- inconveniente de que al ir circulando el líquido se forma una -- gran cantidad de espuma la cual disminuye la velocidad de separación.

c) Separación por centrifugación.- Es el método de separación adecuado. Por medio del cual se obtiene una completa separación, dando como resultado un producto sin contaminación.-

Una vez elegido el método de separación de insolubles, se realizaron las extracciones a diferentes pH bajo las siguientes condiciones: (fig. 4-2 )

FIGURA 4 - 2



Los valores asignados a las variables que permanecen -- constantes se modificaron una vez obtenida el pH óptimo de extracción.

Los resultados obtenidos en las diferentes extracciones fueron los siguientes;

4.2.1. Extracción a pH de 1.- Se obtiene un producto -- blanco, casi inodoro, el cual al batirlo produce una gran cantidad de espuma de muy buena consistencia. La prueba de batido se realizó ya que paralelamente a la obtención de proteínas se está realizando la obtención del producto espumante. Dio un rendimiento de 70%

4.2.2 Extracción a pH 2.- Se obtiene un producto similar al obtenido a pH 1, con las mismas características. Este producto, una vez que ha sido neutralizado con NaOH y llevado al secador, puede ser mezclado con agua a una concentración -- del 5 %, batirlo posteriormente produciendo un volumen de espuma 10 veces mayor que el volumen inicial. El rendimiento de la extracción es aproximadamente de un 70 %

4.2.3. Extracción a pH 7.- Se obtiene una proteína de color blanco ostión casi inodora al batirla no produce espuma con un rendimiento alrededor del 71 - 75 % sobre el porcentaje total de proteínas contenidas en la muestra. Rend. 68%

4.2.4 Extracción a pH 9.- El color del extracto es amarillo y presenta un olor desagradable, probablemente se deba -

a que un medio alcalino favorece la disolución de los pigmentos y fosfolípidos causantes del color y olor de la harina de soya. El rendimiento obtenido es alrededor de un 70%. La proteína obtenida produce una gran cantidad de espuma pero de baja estabilidad.

4.2.5. Extracción a pH 11.- El color y olor son más fuertes que en la extracción anterior. La proteína obtenida al mezclarla con agua produce una espuma amarilla, abierta e Inestable. Rend. 68 %

4.2.6 Extracción a pH 13.- El producto obtenido es de mala calidad, amarillo y con fuerte olor a soya. Al batirlo forma muy poca espuma y muy abierta lo cual da baja estabilidad. El rendimiento es de un 74%

Los resultados anteriores pueden resumirse en la siguiente tabla.

TABLA 4 - II

Proteínas

pH de extracción	Color	Olor	Calidad espuma	Rendimiento
1	Blanco	Inodoro	Muy buena	70 %
2	"	"	"	70 %
7	blanco	ligero a soya	no produce espuma	68 %
9	ligera mente amarillo	desagradable	mala calidad	70 %
11	amarillo verdoso	desagradable	"	72 %
13	"	"	muy mala	74 %

TABLA 4-II INFLUENCIA DEL pH EN LA EXTRACCION

De los resultados anteriores podemos concluir lo siguiente:

I.- En las extracciones efectuadas a pH fuertemente ácidos, se obtiene una proteína de buena calidad pero degradada, -  
Debido al tratamiento ácido al que fué sometida.

Este producto puede usarse como agente espumante, pero -  
no en la elaboración de texturizados.

II. La proteína obtenida en una región de pH de 7 - 8, presentó su buen aspecto, es de buena calidad y al batirla no produce espuma. Presentó también buen rendimiento; puede considerarse que esto es el pH óptimo de extracción (pH 7-8) para -  
obtener el aislado de proteínas. Esta proteína puede ser usada en la elaboración de texturizados.

III. Los productos obtenidos a pH fuertemente alcalinos no son recomendables, debido a que están acompañados de una serie de impurezas que tendrían que ser eliminadas posteriormente.

#### 4.3 Modificación de variables en el proceso.

Una vez encontrado el pH óptimo de extracción y el método de separación de insolubles se modificaron las variables - -  
de concentración, temperatura, tiempo de extracción, con objeto de aumentar el rendimiento obteniéndose los siguientes resultados:

## 5.3.1. CONCENTRACION DE LA EXTRACCION.-

Se aumentó la concentración de la harina en el extracto-gradualmente hasta un 50%, observándose que disminuía el rendimiento del producto. Se obtienen buenos resultados dentro de un límite de concentración del 10 - 20%.

(Tabla 4 - III)

TABLA 4 - III.- EFECTO DE LA CONCENTRACION DE LA HARINA SOBRE EL RENDIMIENTO.-

C	pH	t	R
5 %	7.5	2 h.	60%
10%	7.5	2 h.	67%
15%	7.5	2 h.	72%
20%	7.5	2 h.	75%
25%	7.5	2 h.	62%
30%	7.5	2 h.	60%
35%	7.5	2 h.	42%
40%	7.5	2 h.	37%

c) Concentración de la harina en el extracto.

pH) pH a el cual se efectúa la extracción.

t) Tiempo de extraccion

r) Rendimiento expresado en % sobre el total de proteínas

## 5.3.2. TEMPERATURA DE LA EXTRACCION.-

Se modificó la temperatura de extracción hasta 45°C con objeto de observar alguna variación en el rendimiento. La temperatura óptima de extracción corresponde a 35°C aproximadamente, pero el rendimiento solamente aumenta en 4 ó 5%, por lo cual -- por costos de operación no es recomendable hacer la extracción a esa temperatura. El rendimiento aumentó del 70 - 75%.

La extracción se recomienda realizar a temperatura -- ambiente (tabla 4 - IV)

TABLA 4 - IV.- EFECTO DE LA TEMPERATURA DE EXTRACCION

T	pH	t	c	R
25°C	7.5	2 h.	20 %	70 %
30°C	7.5	2 h.	20 %	72 %
35°C	7.5	2 h.	20 %	75 %
40°C	7.5	2 h.	20 %	75 %
45°C	7.5	2 h.	20 %	75 %

T) Temperatura a la cual se efectúa la extracción.

## 5.3.3. TIEMPO DE EXTRACCION.-

Se modificó el tiempo de extracción observándose los siguientes resultados. (Tabla 4-V)

TABLA 4 - V.- EFECTO DEL TIEMPO DE EXTRACCION SOBRE EL RENDIMIENTO.-

t	pH	C	T	R
0.5 h	7.5	20 %	25°C	35 %
1.0 h	7.5	20 %	25°C	60 %
1.5 h	7.5	20 %	25°C	70 %
2.0 h	7.5	20 %	25°C	74 %
2.5 h	7.5	20 %	25°C	75 %
3.0 h	7.5	20 %	25°C	75 %

Se observó un buen rendimiento en un tiempo de extracción de 1.5 - 2 h.

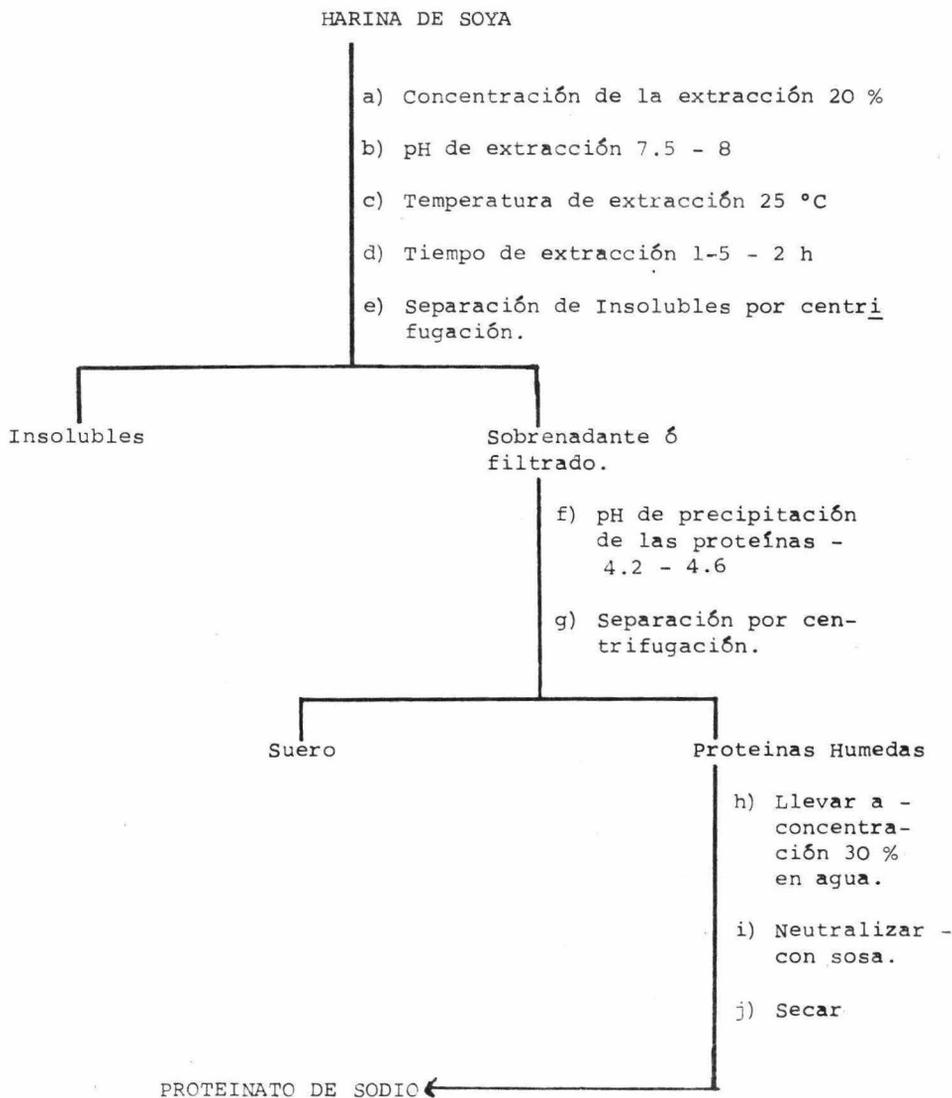
Como resultado de las extracciones anteriores podemos concluir que las condiciones óptimas de extracción son las siguientes: (Tabla 4 - VI)

TABLA 4-VI.- Condiciones Optimas de Extracción de Proteínas

pH de extracción	7.5
C Concentración de la extracción	20 %
T Temperatura de extracción	25 °C
t Tiempo de extracción	1.5 - 2 h.
pH de precipitación de las proteínas.	4.2 - 4.6

Las condiciones optimas de operación para obtener proteína de soya se pueden resumir en el siguiente diagrama:

fig. 4-3



Las proteínas obtenidas por el proceso anterior, se usan para la preparación de los texturizados de proteínas ó carnes - de soya, para complementar alimentos infantiles, en la preparación de leches vegetales; tomando en cuenta la limitación que tienen en determinados aminoácidos.

#### 4.4 OBTENCION DEL PRODUCTO ESPUMANTE.-

Durante el proceso de extracción de proteínas se obtuvo un producto con propiedades espumantes que corresponde a albúmina de soya. Este producto fué obtenido al realizar diferentes extracciones a pH de 1 y 2 respectivamente.

La proteína obtenida fué precipitada con Na OH a pH de 4.4, separada por centrifugación; llevada a una suspensión en agua al 30 % donde fué neutralizada con Na OH y finalmente secada por aspersion se siguieron los mismos pasos del proceso anterior con la unica diferencia que el pH de extracción fue de 1 - 2

El producto obtenido en este 2<sup>o</sup> proceso fué un polvo blanco, el cual se mezclo con agua a diferentes concentraciones con objeto de observar la estabilidad y el volumen de la espuma producida se obtuvieron los siguientes resultados.

(tabla 4 - VII)

TABLA 4 - VII

Albúmina g	agua (ml)	t batido	espuma (ml.)
5 g	95 ml	8'	750
10 g	90	8'	950
15 g	85	8	900
20 g	80	8	800
25 g	75	8	600
30 g	70	8	500

Se realizaron pruebas de comparación entre la espuma -  
 producida por la albúmina de soya y la producida a partir de -  
 albumina de huevo tomando en cuenta que en 100 g. de clara de-  
 huevo tenemos 11.1 g Proteína.

Se batieron 100 ml de albumina de huevo obteniéndose --  
 los siguientes resultados:

Albumina de huevo	Volumen Producido	S espuma g /c.c.	Drenado t / ml.
100 ml	750 ml	0.1390	15' - 1 ml. 20' - 3 ml. 30' - 5 ml 40' - 7 ml 55' - 12 ml

Se observó que el volumen producido por la clara de huevo correspondió de acuerdo con la tabla 4 - VII al producido por 5 g albumina / 95 ml agua se determinó la densidad y estabilidad de este producto:

Albumina de Soya	Volumen producido	S espuma g/c.c.	Drenado t / ml
5g / 95 ml agua	750 ml	0.1035	10' - 1 ml
			15' - 3 ml
			20' - 6 ml
			25' - 20 ml
10 g/ 90 ml agua	950 ml	0.1214	11' - 1 gota
			16' - 2 ml
			22' - 4 ml
			27' - 14 ml

De los resultados anteriores puede concluirse lo siguiente: El volumen producido de espuma por la albúmina de soya es mayor que el producido por la albúmina de huevo, tomando en cuenta la relación:

g proteína / 100 g muestra

La espuma producida por albumina de soya se bate a punto de turrón fuerte es blanca y de buena consistencia. La espuma de albúmina de huevo es más estable que la producida por la albúmina de soya.

Respecto a la diferencia que existe entre sus propiedades funcionales se observó lo siguiente:

a) Coagulación: La albúmina de soya no presenta esta -- propiedad que es característica de la albúmina de huevo.

b) Aereación: tanto la albúmina de huevo como la de soya pueden usarse en la confección de panes y pasteles sin notarse diferencia en el volumen, textura, color y apariencia entre los panes confeccionados con una y otra respectivamente.

c) En la industria del dulce puede usarse para substituir total o parcialmente a la albúmina de huevo. Se observaron mejores resultados en la confección de chiclosos.

#### 4.5 OBTENCION ENZIMATICA DE ALBUMINA DE SOYA.-

Con objeto de observar si existía alguna diferencia entre la albúmina de soya obtenida por hidrólisis parcial enzimática y la obtenida por tratamiento ácido se procedió a obtener la primera a partir de un aislado de proteínas obtenido a pH de 7.5, precipitado posteriormente a pH de 4.4, centrifugado y llevado a una suspensión del 10 - 15%. Sobre esta suspensión (en agua) se realizó la hidrólisis parcial enzimática con pepsina 30,000 unidades/g. de poder digestivo y un orden de actividad 1:10,000.

La hidrólisis se realizó de acuerdo con el método - -  
2.3.2. bajo las siguientes condiciones:

a) La concentración de la proteína en suspensión fué de -

12%

b) pH = 2, a este pH presenta la pepsina su actividad -  
óptima.

c) Concentración de la enzima 0.35 %

d) Temperatura óptima de hidrólisis 35°C

e) Tiempo de hidrólisis enzimática 1.5 h.

Una vez transcurrido este tiempo se detiene la reacción modificando el pH para llevarlo a 7 y aumentando la temperatura bruscamente hasta 90°C

El hidrolizado neutro es llevado al secador. Se obtiene un polvo blanco más fino que el obtenido por tratamiento ácido y además alrededor del 75% de este producto es soluble en agua.

#### 5.5.1. OBSERVACION DE LAS PROPIEDADES ESPUMANTES DE ESTE PRODUCTO.

Hidrolizado	t. batido	espuma
5 g.            95 ml. H <sub>2</sub> O	8'	600 ml.
10 g.           90 ml. H <sub>2</sub> O	8'	850 ml.
15 g.           85 ml. H <sub>2</sub> O	8'	850 ml.

Se observa que la espuma producida es un poco amarilla y no es de tan buena consistencia como la obtenida por tratamiento ácido.

Al confeccionar panes en la misma proporción que los --  
confeccionados con huevo y albúmina de soya (obtenida por tra-

tamiento ácido) presenta los mismos resultados.

Finalmente se puede concluir lo siguiente:

a) En la extracción de proteínas a pH fuertemente ácido se aísla la proteína albúmina de soya la cual produce una espuma de buena calidad.

b) El producto obtenido por este proceso no presenta --contaminación.

c) Resulta más económico que el huevo y es de fácil manipulación.

d) Con respecto a las propiedades funcionales es capaz de substituir al huevo, pero desde el punto de vista alimenticio no lo es.

BIBLIOGRAFIA

- 1) American Oil Chemist's Society, "Official and Tentative - - Methods' 3rd. ed., Tentative Method Ba II-65, 1965.
- 2) Anson, M.L., Pader, M. (To lever Brothers Co.) "Protein Food Products and method of Making same" U.S. Patent 2, 830, 902 (Apr. 15, 1958)
- 3) Aspinall, G.O. Bigbie, R., McKay, J.E., Cereal Sci. Today 12, 223 (1967)
- 4) Association of Official Agricultural Chemists. "Methods of Analysis"; 10 ed. (1965) Washington, D.C.
- 5) Bailey, L.H., Capew, A.Q., and Le Clerc, J.A. Cereal Chem. 12, 441 (1935)
- 6) Belter, P.A., Smith, A.K. "Protein Denaturation in Soybean - Meal during Processing" J.Amer. Oil Chem. 29, 170 (1952)
- 7) Burnett, R.S., "Preparation of Whipping Composition and -- the resulting product". U.S.P. 2,489,173 (Nov. 22, 1949)
- 8) Eldridge, A.C., Hall, P.K.; Wolf, W.J.; "Stable Foams from Unhydrolyzed Soybean Protein" Food Technol. 17, 1592, (1963)
- 9) Eley, C.P., In marketing and Transportation situation, - - ERS-388, pp. 27-30 U.S. Department of Agriculture - - Washington, D.C. (1968)
- 10) Horan, F.E., Proc. Int. Conf. Soybean Protein Foods, Peoria, III, ARS-71-35, p.p. 129-141 U.S. Department of Agriculture, Washington, D.C. (1966)
- 11) Johnson, D.W., "Oilseed proteins - properties and applications" Food Prod. Dev. 3 (8) 78, (1970)
- 12) Johnson, V.L., Smith, A.L. "Hydrolytic Treatment of Soybean Protein with Papain", (1948)
- 13) Kies, M.W., Haining, J.L., Pistorius, Schroeder, D.H. - Biochem Biophys. Res. Commun. 36, 312 (1969)
- 14) Mc Anelly, J.K. (To Swift and Co.) U.S. Patent 3, 142, 571 (July 28, 1964)

- 15) Meyer, E.W., Proc. Int. Conf. on Soybean Protein Foods, - Peoria Ill. ARS-71-35, pp. 142-154, U.S. Department of - Agriculture Washington, D.C., 1966.
- 16) Moshy, R.J. "Process for treating Soybean Flour" (To General Foods Corp), U.S. Patent 3, 126, 286 (Mar. 24, 1964)
- 17) Mustakas, G.C. et al "Flash Desolventizing Defatted Soybean Meals Washed with aqueous alcohols to yield a high-Protein Product" J. Amer. Oil. Chem. Soc. 39, 222 (1962)
- 18) Nash, A.M. Eldridge, A.C. Wolf, W.J.J. Agr. Food Chem. 15, 102 (1967)
- 19) O'Hara, J.B. Schoeffler, A.E. (to A.E. Staley Mfg. Co.) U.S. Patent 3, 207, 744 (Sept. 21, 1965)
- 20) Pomeranz. Y., Shoegren, M.D., Finney K.F., Cereal Chem. 46, 512 (1969)
- 21) Rackis, J.J., Anderson, R.L., Sarame, H.A., J. Agr. Food Chem., 9, 409 (1961)
- 22) Rusoff, I.I., Ohan W.J., Long C.L. "Protein Food Products and Process" (To General Foods Corp.), U.S. Patent 3, 047, 395 (July 31, 1962)
- 23) Sair, L. U.S.P.O. 2, 502, 029 (Mar. 28, 1950)
- 24) Sair, L. "Preparation of Modified soy protein" U.S.P.O. 2, 502, 482 (Apr. 4, 1950)
- 25) Sair, L. "Proteinaceous soy composition and Method of preparing" (To the Griffith Laboratories Inc.) U.S.P.O. 2, 881 - 076 (Apr. 7, 1959)
- 26) Sair, L. "Method of extracting protein from defatted soybean material" U.S.P.O. 3, 001, 875. (To the Griffith Laboratories Inc.) (1961)
- 27) Soichi Arai, Masotoshi Noguchi, Shukuko Kurosawa. "Applying Proteolytic Enzymes on Soybean." Journal of Food Science 35, 392 - 395 (1970)
- 28) Smith, A.K., Circle, S.J. "Peptization of Soybean Proteins" Ind. Eng. Chem. 30, 1414 (1938)

- 29) Turner, J.R. "Modified Soy Protein and the Preparation - - there of". U.S.P.O. 2, 489, 208". Patentada (Nov. 22, 1949)
- 30) Watts, B.M.; "Whipping ability of Soy - bean proteins" Ind. Eng. Chem. 29 (9) 1009-1011 (1937)
- 31) Watts, B.M. and Ulrich D. Ind. Eng. Chem. 31, 1282 - 1283 (1939)
- 32) Wolf, W.J., Sly, D.A., Arch. Biochem. Biophys 110, 47 (1965)
- 33) Wolf, W.J. Sly D.A., Cereal Chem. 44, 635 (1967)
- 34) Wolf, W.J., Sly, D.A. Babcock, G.E. Cereal Chem. 41, 328 (1964)
- 35) Wolf, W.J. Tamura, T., Cereal Chem 46, 331 (1969)
- 36) Ziembra, J.V. "Let Soy Proteins Work Wonders for you" Food Eng. 38 (5), 82 (1966)
- 37) Ziembra, J.V. Food Eng. 41 (II) 72, (1969)