



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

"CARACTERIZACION ELECTROFORETICA Y FUNCIONAL DE LAS PROTEINAS DEL SALVADO DE ARROZ (TIPO MILAGRO-FILIPINO)"

T E S I S

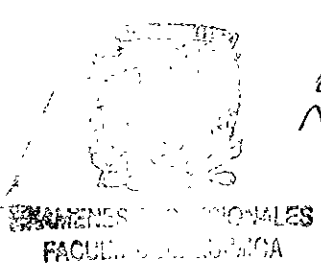
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE: QUIMICA DE ALIMENTOS PRESENTA: KARLA MERCEDES DIAZ GUTIERREZ ERIKA BEGOÑA MALDONADO CUESTA



MEXICO, D. F.

2000

286767





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.

*JURADO ASIGNADO*

**PRESIDENTE:** PROF. OLGA VELAZQUEZ MADRAZO

**VOCAL:** PROF. FEDERICO GALDEANO BIENZOBAS

**SECRETARIO:** PROF. FELIPE DE JESUS RODRIGUEZ PALACIOS

**1er SUPLENTE:** PROF. ALFREDO SALAZAR ZAZUETA

**2do SUPLENTE:** PROF. CARLOS MANUEL SHELLY ALVAREZ-TOSTADO

**SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA:**

Lab. de Inmunología,  
Depto de Medicina Experimental,  
Hospital General

Lab. 312,  
Conjunto E,  
Facultad de Química, UNAM


**ASESOR DEL TEMA:**

  
FEDERICO GALDEANO BIENZOBAS

**ASESORA TÉCNICA:**

  
IDALIA M. ANTONIETA FLORES ARGUELLO

**SUSTENTANTES:**

  
KARLA MERCEDES DIAZ GUTIERREZ

  
ERIKA BEGONA MALDONADO CUESTA

## DEDICATORIAS

*A Dios, al que le debo la dicha de vivir.*

*A la Virgen de Guadalupe, por ser mi consuelo y guía.*

*A mi madre Ma del Carmen Gutiérrez por ser el equilibrio de su familia, por mostrar fortaleza en tiempos difíciles y dar todo su amor en cada cosa que hace.*

*A mi padre, Carlos M. Díaz por ser un luchador incansable y enseñarme a ser fuerte y responsable cada día Gracias*

*A mi abuelo Carlos I Díaz(f) por hacer de mi infancia la época más maravillosa y feliz de mi vida Te extraño*

*A mi hermano Carlos E Díaz por escucharme siempre y ser mi incondicional*

*A Praxedis I Santamaría Mata, por compartir conmigo todos estos años, por poner todo tu amor y esfuerzo en todo lo que hemos hecho juntos, por trabajar conmigo y ser la persona con la que disfruto de mis los logros y corrijo mis fracasos, eres parte importante de mi vida.*

*A Marisa O. Karla I Y Laura O., por estudiar Q.A. y haberlas conocido: los momentos que estuve con ustedes los tendré siempre presentes.*

*Al Ing Federico Galdeano B., por darme parte de su tiempo y esfuerzo, es usted parte importante de este trabajo*

*A Idalia Flores A, por aceptarme, ayudarme y apoyarme durante este año de trabajo Sin ti todo este tiempo no hubiera sido tan agradable*

*A las doctoras Amelia Farrés, Amanda Gálvez y Ma Carmen Quijasco, por incluirme en su círculo de trabajo y compartir conmigo toda su sabiduría y experiencia.*

*A las doctoras Emma y Cecilia y a los doctores Fernando, Augusto y Alfonso del Hospital General por brindarnos asilo y compartir su conocimiento con nosotras, sin ustedes este trabajo no sería lo que es.*

*A los profesores del departamento de Alimentos Angela Sotelo, Lucía Cornejo, Lourdes Gómez, Olga Velázquez y Alfredo Salazar, por creer en mí y brindarme esta maravillosa oportunidad Mil gracias.*

*A todas mis compañeras del laboratorio 312 por su apoyo, ayuda, confianza y sobre todo su amistad.*

*\*La elección y la exclusividad son condiciones que la amistad comparte con el amor.  
En cambio, podemos estar enamorados de una persona que no nos ame.  
pero la amistad sin reciprocidad es imposible.  
La amistad no nace la vista, como el amor, sino de un sentimiento más complejo:  
la afinidad en las ideas, los sentimientos o en los intereses.  
El trato refina y transforma a la simpatía en amistad.  
El amor nace del flechazo; la amistad del intercambio frecuente y prolongado.  
El amor es instantáneo; la amistad requiere tiempo.  
El amor es trágico; la amistad es una respuesta a la tragedia.  
El amor es atracción involuntaria hacia una persona y voluntaria aceptación de esa atracción.\**

**"LA LLAMA DOBLE"**  
**OCTAVIO PAZ**

## ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I	
Marco teórico	3
1.1 GENERALIDADES	3
1.1.1 Definición	3
1.1.2 Clasificación y variedades	3
1.1.3 Características	4
1.1.4 Composición química	6
1.1.5 Utilización del salvado	9
1.1.6 Usos diversos	9
1.1.7 Producción mundial	12
1.2 PROCESAMIENTO DEL ARROZ	14
1.2.1 Justificación del proceso	14
1.2.2 Descripción del proceso	15
1.2.3 Subproductos obtenidos	18
1.3 ANTECEDENTES DE PROTEÍNAS DE LOS CEREALES (métodos de extracción)	20
1.4 PROPIEDADES FUNCIONALES DE LAS PROTEÍNAS (Generalidades)	22
1.4.1 Hidratación	23
1.4.2 Solubilidad	26
1.4.3 Emulsificado	29
1.4.4 Espumado	31
1.4.5 Otras propiedades funcionales (coagulación y agregación)	34
1.4.6 Propiedades funcionales y su relación con la estructura y función de las proteínas	35
CONCLUSIONES DE INVESTIGACIÓN TEÓRICA	37
OBJETIVOS	39
CAPÍTULO II	
Metodología	40
2.1 DESCRIPCIÓN DE MATERIA PRIMA	40
2.1.1 Homogeneización de la materia prima	40
2.1.2 Desgrasado	40
2.1.3 Análisis proximal	40
2.1.4 Análisis microbiológico	41
2.1.5 Determinación de pH	41
2.2 SOLUBILIDAD DE LAS PROTEÍNAS DEL SALVADO DE ARROZ	41
2.2a Curvas de solubilidad vs pH	41
2.2b Electroforesis	41
2.2c Ajuste de condiciones para la extracción de proteínas	42
2.3 CONCENTRADO PROTEICO DE SALVADO	44
2.3.1 Pasteurización	44
2.3.2 Liofilización	44
2.4 DETERMINACIÓN DE PROPIEDADES FUNCIONALES	45
CAPÍTULO III	
Resultados y análisis	48
3.1 DESCRIPCIÓN DE MATERIA PRIMA	48
3.1.1 Homogeneización	48
3.1.2 Desgrasado	48
3.1.3 Caracterización bioquímica y microbiológica	50
3.1.4 Determinación de pH	51
3.1.5 Análisis microbiológico	51
3.2 OBTENCIÓN DEL CONCENTRADO PROTEICO	53
3.2a Solubilidad de las proteínas del salvado de arroz	55
3.2b Ajuste de condiciones para la extracción de proteínas	75

3.3	CONCENTRADO PROTEICO DE SALVADO	76
3.4	PROPIEDADES FUNCIONALES	77
3.4.1	Capacidad de absorción de agua	77
3.4.2	Capacidad de absorción de aceite	77
3.4.3	Humectabilidad	78
3.4.4	Solubilidad	79
3.4.5	Capacidad y estabilidad de la espuma	82
3.4.6	Estabilidad de emulsión e IAE	87
3.4.7	Grado de agregación de proteínas	93
3.4.8	Coagulación de proteínas	97
3.4.9	Evaluación de las muestras de salvado vs aislados de soya	99
	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	110
	ANEXO I	
	Tablas de resultados	113
	ANEXO II	
	Técnicas de propiedades funcionales	121
	ANEXO III	
	Características de aislados de soya	131
	BIBLIOGRAFIA	134

## 3: INTRODUCCIÓN

La utilización de materias primas alternas para satisfacer las necesidades de consumo humano han provocado el interés por investigar como aprovechar los subproductos generados durante el procesamiento en la industria de alimentos.

Desde el punto de vista industrial los subproductos implican:

1. Altos volúmenes de producción (toneladas)
2. Contaminación ambiental por la cantidad y porque no existe una vía alterna en muchos casos para su aprovechamiento
3. Pérdidas en la inversión del industrial por tener que almacenarlo o desecharlo sin sacar algún beneficio económico.
4. Interés por la composición química que presentan y pueden presentar propiedades nutricionales y/o funcionales que permitan su utilización en la industria de alimentos.

Desde el punto de vista académico los subproductos son interesantes por:

1. El estudio de las materias primas enfocado como un complejo alimenticio, es decir, el análisis del subproducto química y físicamente así como la búsqueda de las condiciones para la separación de los componentes de interés.
2. La obtención de los productos aislados (carbohidratos, proteínas, fibra, etc.) para el desarrollo de proyectos de estudio a nivel molecular y/o su aplicación en el desarrollo de nuevos productos.
3. La búsqueda de las condiciones de operación a nivel laboratorio para su posterior aplicación a escala industrial.

En este contexto, un subproducto de la industria arrocera, el salvado de arroz es una fuente rica de proteínas de alta calidad y también es rico en fibra y aceite. (Gnanasambandam R, Hettiarachchy N. S., 1995). El salvado de arroz puede ser una fuente potencial para preparar concentrados y aislados proteicos los cuales pueden ser utilizados en productos alimenticios y así aprovechar este subproducto obtenido del procesamiento del arroz. (Patil S.N. y col., 1994)



El uso de proteínas de bajo costo puede reducir potencialmente los costos en rendimientos y contribuir en forma razonable y nutritiva en alimentación humana. Las proteínas pueden ser añadidas como ingredientes o aditivos a los alimentos debido a los beneficios nutricionales y funcionales que aportan. El tipo de proteínas y su estructura determina sus propiedades funcionales. Las proteínas de origen vegetal son utilizadas como ingredientes en la formulación de nuevos productos o para reemplazar proteínas de origen animal en alimentos convencionales. (Aluko, Yada, 1995).

## MARCO TEÓRICO

### CAPÍTULO I

#### ARROZ Y SALVADO DE ARROZ

##### 1.1 GENERALIDADES

###### 1.1.1 DEFINICIÓN

A) **ARROZ.**- El arroz pertenece a la familia de las gramíneas y al género *Oryza*. Es una planta de ciclo anual. Mide entre 50 y 150cm de altura, algunas especies alcanzan alturas mayores de 150cm (SEP/Trillas, 1993).

**SALVADO DE ARROZ** - El salvado que resulta en el proceso de perlado incluye al pericarpio la capa de aleurona, el embrión o germen y parte del endospermo, los cuales en conjunto poseen un valor nutritivo y amplia demanda como alimento animal. Es rico en proteínas y en grasa, su contenido en fibra es alto por lo cual es difícil su utilización en alimentos para consumo directo en humanos. (Prakash J, Ramanatham G., 1995).

###### 1.1.2 CLASIFICACION Y VARIEDADES

###### ARROZ

El cultivo del arroz surgió en el sudeste asiático y en África; los primeros datos del cultivo del arroz se sitúa alrededor del año 2800 a.C., en China. (SEP/Trillas, 1993)

La clasificación del arroz es la siguiente:

Familia: *gramíneas*  
Tribu: *oríceas*  
Género: *oryza*  
Especie: *sativa*

Las variedades del arroz pertenecen a los siguientes grupos y razas geográficas:

- Grupo *indica*: crece en las regiones tropicales de la India, Indochina, Filipinas, parte de los Estados Unidos y México.
- Grupo *japónica*: es el arroz que se cultiva en las regiones subtropicales de Japón, Corea, zona del Mediterráneo, oeste de los Estados Unidos y parte de Sudamérica.
- Grupo *javánica*. es un grupo que se cultiva principalmente en Burma e Indonesia.

Estos grupos tienen las siguientes características.

TABLA No. 1

Descripción de los diversos tipo de arroz

CARACTER	INDICA	JAPONICA	JAVANICA
Ciclo vegetativo	Largo	Corto	Muy largo
Tolerancia a contratiempos	Alta	moderada	Baja
Acame	Susceptible	Resistente	Resistente
Respuesta a fertilización	Baja	Alta	Baja
Color de la planta	Verde claro	Verde oscuro	Verde claro
Macollas	Numerosas	Algunas	Pocas
Grano	Largo/delgado	Corto/grueso	Ancho/grueso
Peso de panoja	Ligero	Pesado	Pesado
Rendimiento	Medio	Alto	Bajo

Fuente: Manual para la Educación Agropecuaria, SEP/Trillas, 1993.

### 1.1.3 CARACTERÍSTICAS

A) ARROZ. El grano del cereal es un fruto en cariopside con una sola semilla, su cubierta exterior está constituida por pericarpio y testa (tegmen). El pericarpio comprende entre otros: epicarpio, mesocarpio y una capa de células transversales. En la testa el grano maduro solo se diferencia por una capa celular. El pericarpio es rico en celulosa y en la testa aparece una capa continua de sustancia grasa en la cual se encuentran los pigmentos que dan el color característico.

Subyacente a la testa se encuentra la capa de aleurona, que tiene uno o varios estratos de células de parenquima, que contienen abundantes glóbulos de grasa y proteínas.

El endospermo esta constituido por células de parenquima repletas de gránulos de almidón. Las células de la capa más externa del endospermo son ricas en gránulos proteicos.

El embrión esta localizado en un extremo del grano, los tejidos del germen son ricos en proteínas y lípidos. El germen está envuelto por pericarpio, testa y aleurona

(Prmo Y., Carrasco J., 1973)

El arroz presenta además una cubierta lignocelulósica más externa llamada cascarilla, rica en sílice (SEP/Trillas, 1993).

El arroz con la cáscara de sílice, denominado arroz moreno o sin pulir es inadecuado para el consumo humano debido a que las capas externas del grano de arroz presentan gran cantidad de fibra que resulta difícil de comer, por lo que se debe someter a un proceso de molienda, en el cual

se eliminan la capa externa, el germen, la aleurona y algo del endospermo, estas partes constituyen el salvado, quedando finalmente el arroz blanco o pulido. (Ver tabla No 2)

TABLA No. 2

*Balance de materiales en el proceso de molienda del arroz*

PRODUCTO	PORCENTAJE EN PESO
Arroz con cascara	100
Arroz blanco	60 – 70
Cascarella	16 – 21
Salvado	5 – 12
Germen	1.5 – 2.5
Medianos	5 – 15

Fuente: Primo. Y., Carrasco, J., 1973

El arroz puede encontrarse en el mercado nacional como arroz integral, arroz moreno, arroz blanco y arroz "parboiled" o precocido.

El arroz blanco puede consumirse de varias formas, como harina para pasteles y galletas, es usado en la industria cervecera junto con la malta, en la preparación de bebidas alcohólicas como el sake japonés, en la preparación de la bebida típica de horchata, en dulces y como arroz entero.

El arroz integral se utiliza como semilla y el hombre lo consume en menor cantidad.

B) SALVADO DE ARROZ. Es de color café suave y es removido del arroz a partir de un tamizado. Este salvado tiene un alto contenido proteico (aprox. del 14%) y esta constituido por aceite el cual puede ser removido con solventes orgánicos.

Estudios realizados han mostrado que el salvado de arroz puede disminuir más el contenido de colesterol en comparación con el del salvado de avena. Uno de los problemas del salvado de arroz es la facilidad con la que se enrancia por lo cual solamente se utiliza para alimentación de ganado. Las técnicas actuales de extracción por solventes del aceite del salvado de arroz, han hecho posible la estabilización del salvado de arroz y por lo tanto su introducción como alimento humano aunque primordialmente su consumo sea animal. (Benedito, C., Cordero, C.V., Primo, E., 1986).

El salvado de arroz es alto en fósforo y bajo en calcio. (N. I. of R., 1998)

## 1.1.4 COMPOSICIÓN QUÍMICA

### A) ARROZ

El arroz, al igual que otros cereales carece de vitaminas A, D y C, pero contiene tiamina, riboflavina y niacina

Estas vitaminas están en mayor proporción en el arroz integral, ya que se encuentran en el germen (Grist, D.H., 1982, Juliano, B.O., 1972)

TABLA No. 3

*Composición química del arroz*

CONSTITUYENTE	ARROZ' *	ARROZ''*
Agua	8.5	12.0
Proteínas	11.0	8.0
Grasas	0.6	1.9
Hidratos de carbono	54.0	62.7
Fibra cruda	16.1	9.0
Cenizas	8.8	6.3

\*Expresado como %

'Primo, Y., Carrasco, J., 1973.

''Jayme, A., Rojo, M., Trejo, M., 1980

La eliminación de proteínas y macronutrientes en general producidas en el proceso de molienda del arroz es notable, quedando gran parte de éstos en el salvado. Como se puede observar en las tablas 4, 5 Y 6:

TABLA No 4

*Composición química del arroz y los subproductos de la molienda*

PRODUCTO	PROTEINA	GRASA	CHO's	FIBRA	CENIZAS
Cascanilla	2.2 – 4.8	0.4 – 0.8	20.7 – 34.8	47.3 – 53.4	15.3 – 20.3
Salvado	12.9 – 16.8	14.3 – 17.0	45.5 – 54.8	9.4 – 10.8	8.6 – 9.9
Germen	19.2 – 26.4	19.9 – 23.8	34.9 – 50.8	3.0 – 4.8	7.1 – 10.1
Medianos	7.2 – 9.7	0.4 – 2.8	79.3 – 90.7	1.2 – 4.7	0.5 – 3.5
Arroz blanco	8.1 – 8.4	0.3 – 0.6	89.9 – 90.8	0.3 – 0.5	0.5 – 0.6

(Sep/Trillas, 1993)

TABLA No. 5

*Distribución de vitaminas entre los tejidos del grano de arroz descascarillado del tipo Milagro-Filipino*

TEJIDO O PARTE DEL GRANO	TIAMINA (%)	NIACINA (%)
Pericarpio, testa, aleurona	34.5	82.0
Escutelo	47.0	2.0
Endospermo	8.0	15.0
Germen	10.8	1.0

Primo, Y., Carrasco, J., 1973.

TABLA No. 6

*Cantidad de vitaminas y minerales presentes en el grano de arroz descascarillado*

NUTRIENTE	% DEL TOTAL EN EL ARROZ BLANCO
Tiamina	20
Riboflavina	55
Niacina	35
Potasio	50
Fósforo	45
Magnesio	35
Hierro	25

Primo, Y., Carrasco, J., 1973.

## B) SALVADO DE ARROZ

La composición química y valor nutritivo del salvado se muestra en las siguientes tablas:

(No. 7 y 8) (Grist, D.H, 1982; Juliano, B.O., 1972)

La digestibilidad del salvado es del 75%, se considera que tiene un alto valor nutritivo pero la presencia de cáscara (alto contenido en sílice) ha impedido su aprovechamiento. (Barber, 1980,

Jamuna, P., 1995)

TABLA N. 7

*Composición química del salvado de arroz*

DETERMINACION	PORCENTAJE
HUMEDAD	8.9 – 12.5
PROTEÍNA CRUDA	10.6 – 13.6
GRASA CRUDA	10.1 – 22.4
FIBRA CRUDA	9.6 – 14.1
CENIZAS	9.3 – 14.3
CARBOHIDRATOS ASIMILABLES*	31.5 – 44.3

\* Obtenidos por diferencia, (Juliano, B.O , 1972)

TABLA N 8

Valor nutritivo del salvado de arroz

CONSTITUYENTE	PORCENTAJE
Nutrientes digeribles	67.7
Proteína digerible	8.8
Calcio	0.08
Fósforo	1.36
Materia seca	9.12
Fibra	13

Juliano, B.O., 1972.

El valor forrajero del salvado de arroz es algo mas bajo que el del maíz; pero sus proteínas son de buena calidad y complementarias a las del maíz; así, cuando se mezclan salvados de arroz y maíz, el valor proteínico del elemento compuesto es superior al de la suma de cada uno de los dos componentes si se suministran por separado.

Se ha efectuado la comparación de la actividad biológica del salvado de arroz y de los residuos de los demás subproductos de la molienda del arroz (llamados también residuos), alimentando ratas, agregando o no suplemento de lisina, de D y L treonina y de vitamina B12; a los animales se les suministró además una dosis de aceite de hígado de bacalao y de aceite de germen de trigo. Los resultados mostraron que la aportación de lisina y de treonina permite un aumento de peso en las ratas de un 15.4% en el caso del salvado de arroz y del 16.8% en caso de residuos, con lo que el rendimiento en proteínas aumenta respectivamente en 8.7 y 2 1%. además, la aportación complementaria de 0 18 de vitaminas B12 produce una mejora de 27.3 y 26.2% respectivamente en el aumento de peso y de 9.9 y 7.6% respectivamente, en el de proteínas. (Angiadette, Andre, 1989).

La constitución vitamínica y mineral de estas dos clases de residuos se establece como sigue.

TABLA No 9

*Constituyentes vitamínicos y minerales del salvado de arroz*

MICRONUTRIENTE	SALVADO DE ARROZ Mg/100g	RESIDUOS DE BLANQUEO Mg/100g
Tiamina	24.00	22.00
Riboflavina	2.00	2.20
Ácido nicotínico	336.00	330.00
Ácido pantoténico total	27.70	33.30
Ácido pantoténico libre	11.60	9.90
Biotina	0.60	0.57
Ácido fólico total	1.46	1.92
Ácido fólico libre	0.16	0.18
Piridoxina	25.0	20.00
Inositol	4,627.00	4,536.00
Colina	1,700.00	1,020.00
p Ácido aminobenzoico	0.75	0.73
	%	%
Calcio	1.31	0.91
Fósforo	1.48	2.44
Hierro total	0.019	0.028
Hierro disponible	0.010	0.012

Kik, C., 1989.

#### 1 1 6 UTILIZACIÓN DEL SALVADO DE ARROZ

En los países productores de arroz está aumentando el empleo del salvado para alimentar aves, cerdos y ganado vacuno, pero para ese fin la proporción que se suministre no debe pasar del 30% de la ración alimenticia total. (Barber, S., Benedito, C., Martínez, J., 1981, Guerrero, L.M.C., 1973, Lew, E.J.L., Houston, D.F., Fellers, D.A., 1975).

En la dieta humana se ha integrado el salvado de arroz como aditivo en pastas para mejorar textura y aumentar el valor nutritivo del producto en cuanto a proteínas, cenizas y fibra dietética en las cuales se ha utilizado un 20% de salvado de arroz. (Sangronis, E., Rebolledo, M.A., 1997).

#### 1 1 6 a Usos diversos

Los diversos residuos que deja la industria de los derivados del arroz pueden también ser aprovechados para: fabricación de almidón, destilería, aceites de salvado y subproductos de blanqueo



*Obtención de furfural.*- Aplicando un nuevo método italiano, se pueden solubilizar las pentosas obtenidas por hidrólisis de las pentosanas, para que se realice aparte su transformación en furfural; el rendimiento es de 8.5kg de furfural por cada 100kg de salvado. Además, como la estructura celulósica de la materia prima no sufre alteración, puede ser utilizada después para la fabricación de papel, de paneles aislantes, etc.

El furfural se presenta en forma líquida; pardea fácilmente con el aire y la luz, tiene olor característico desagradable y es soluble en alcohol y en éter, pero poco en el agua. Su punto de ebullición es de 161°C.

La utilización del furfural es muy variada, se emplea para la refinación de aceites minerales y vegetales; para la fabricación de desinfectantes, fungicidas y herbicidas, resinas, nylon y caucho sintético. También entra en la fabricación de carburantes especiales para motores a reacción y cohetes. Pero el bajo rendimiento en furfural obtenido del salvado de arroz, hace que con frecuencia se prefiera emplear otras materias de rendimiento más elevados. (Tinarelli, A. 1989, Vázquez, S., 1987).

*Aceite de salvado.*- En EUA, se admite que el salvado de arroz posee una riqueza oleosa media de un 15 a un 18%. El aceite se extrae del salvado procedente del descascarillado, los contenidos de diversos productos en materias grasas varían con las clases de arroz, el grado de tratamiento industrial y el sistema empleado. Desde luego estos contenidos o riquezas difieren considerablemente según se trate de arroz ordinario, o sometido a calor.

El aceite de salvado de arroz puede ser extraído utilizando prensas de jaulas o de cestos, a condición de recalentar previamente la harina de salvado, pero se produce una importante pérdida de materias grasas, por cuanto el rendimiento es inferior en un 5-6% al contenido de estas. En todo caso, no es posible efectuar la extracción con prensa continua, debido a que el salvado de arroz no comprimido se desliza entre el cilindro y el tornillo rotativo inferior.

El método tradicional de extracción es el que hace uso de los solventes, de entre los cuales el hexano es el que se emplea industrialmente.

El aceite de salvado de arroz es neutro, estable y sin olor, con un índice de yodo comprendido entre 91 y 108 (102 por término medio). (Murcia, F.L., Zetuna, C.E., 1973, Angladette, Andre, 1969)

*Fitina*.- Los salvados de arroz contienen cantidades no despreciables de ácido fosfórico. Una mínima parte de este fósforo se halla incluido en combinaciones inorgánicas; el resto está presente en forma de un principio fosfo-orgánico, la fitina, que es un inosito-hexafosfato de calcio y de magnesio; se encuentran también pequeñas cantidades de fósforo lecitínico, lecitídico y nucleínico.

La extracción se puede conseguir por varios métodos, especialmente por la utilización de solución clorhídrica con salvado obteniendo como producto ácido fosfórico y la sal de cloro debido a la reacción que se presenta con el inosito-hexafosfato de calcio y magnesio (fitina).

Los fitinatos de calcio y de magnesio se preparan a partir del fitinato de sodio.

Estos productos pueden ser también extraídos de los salvados y de las harinas de blanqueo desprovistas ya de aceite.

*Vitaminas* - Los procedimientos existentes para la obtención de las vitaminas de los residuos de arroz son escasos; al parecer, en la actualidad solo se han tomado en consideración y puesto en práctica los métodos de extracción de las siguientes vitaminas, contenidas en abundancia en los subproductos de la industria arrocera:

- tiamina (vitamina B1)
- piridoxina (vitamina B6), y
- tocoferol (vitamina E)

Se considera la extracción, indirectamente, de la riboflavina (vitamina B2).

Los métodos se refieren todos al tratamiento de los residuos de blanqueo (salvado, cascara, germen), excepto en lo que hace al tocoferol, cuya extracción se efectúa del aceite de germen de arroz

En realidad, estos varios métodos son poco empleados ya que en la actualidad la mayor parte de las vitaminas se obtienen artificialmente por vía sintética, lo que permite precios de coste y rendimiento mas elevados. (Angladette, Andre, 1980).

Partiendo del salvado de arroz también pueden prepararse otros muchos productos farmacéuticos como la sucramilosa, la dextramilosa, etc . . .

Las posibles aplicaciones del salvado dependen del contenido de nutrientes presentes en su estructura lo cual como anteriormente observamos son considerables estas cantidades y podemos sugerir varios usos ya sea como ingrediente en algunos productos alimenticios tomando en consideración sus propiedades nutricionales o como aditivo resaltando en este punto sus propiedades funcionales. La importancia que radica en el aprovechamiento del salvado de arroz es *disminuir en un porcentaje considerable (casi del 30%) la contaminación que producen las industrias arroceras y la creación de nuevas tecnologías así como fuentes de trabajo para el desarrollo de producciones alternas ya mencionadas.*

#### 1 1.7 PRODUCCIÓN MUNDIAL

##### A) ARROZ

El arroz constituye el alimento básico de un tercio de la población mundial, y la mayor parte de la cosecha se produce y consume en el continente asiático. Nuestro país ocupa el 5to lugar en el ámbito mundial como productor de arroz. ( S.A.R.H., 1993).

El cultivo de arroz ocupa el segundo lugar en superficie en todo el planeta.

TABLA N. 10  
*Principales Productores de Arroz*

PAIS PRODUCTOR	1990*	1991*	1992*
CHINA	171,416	171,438	188,403
INDIA	106,416	111,147	112,500
INDONESIA	41,676	44,726	44,490
BANGLADESH	23,097	27,691	29,400
MEXICO	301	420	260

\*En miles de toneladas SARH, 1993

## B) SALVADO DE ARROZ

Los datos estadísticos referentes al comercio internacional del salvado de arroz son incompletos, por cuanto son muchos los países que no publican estadísticas separadas al respecto.

La producción mundial de salvado de arroz es de 27.3 millones de toneladas. Del total, casi 3.8 millones de ton son proteínas y 5.5 millones de ton. de aceite, los cuales son componentes importantes.

Después de remover la cascara, el arroz es denominado arroz moreno o integral el cual es sujeto a una molienda abrasiva para separar las capas que son designadas como salvado de arroz. El salvado está compuesto de pericarpio y capas del grano siempre con una mayor proporción de aleurona, una parte de endospermo y algunas otras de germen. El salvado de arroz es rica fuente de proteínas, lípidos, vitaminas y trazas de minerales. (Prakash J., 1996)

El continente asiático es el principal productor de salvado de arroz con más del 90% de la producción total; el restante se encuentra dividido en África y América. (ver tabla N. 11)

TABLA N. 11  
*Producción estimada de salvado de arroz (en millones de toneladas)\**

AREA		PRODUCCIÓN
MUNDIAL		27.325
ÁFRICA		0.729
NORTEAMÉRICA		0.526
SUDAMÉRICA		0.850
ASIA		24.939
	China	9.784
	India	5.695
	Indonesia	2.484
	Bangladesh	1.425
	Vietnam	1.118
	Tailandia	0.962
	Myanmar	0.716
	Japón	0.689

\*Prakash J., 1996

## 1.2 PROCESAMIENTO DEL ARROZ

### 1.2.1 JUSTIFICACIÓN DEL PROCESO

El procesamiento (pulido y blanqueo del grano) del arroz consiste en la eliminación de la cáscara, del salvado, del germen y de la capa aleurónica del grano. El valor comercial de los granos enteros es superior al de los granos partidos. Por lo tanto, es necesario tener cuidado de que el grano no se quiebre durante su procesamiento.

El procesamiento consiste en una conversión y una molturación del arroz. La conversión tiene como objetivo acondicionar el arroz para aumentar el valor nutritivo del producto elaborado, disminuir la ruptura de los granos y mejorar sus características culinarias.

El arroz convertido, llamado también precocido, es más resistente al ataque de insectos, se conserva mejor, tiene un color amarillento, no se pega durante la cocción y tiene un sabor diferente del arroz no convertido.

La molturación comprende la eliminación de impurezas (tierra, paja, piedras, etc.), de la cáscara, del salvado, del germen y de la capa aleurónica del grano de arroz.

### NORMAS DE RECEPCIÓN

El arroz deberá estar limpio, sano, libre de plagas, contaminación, mal olor y putrefacción

El contenido de humedad no deberá rebasar el máximo contenido aceptable del 14%

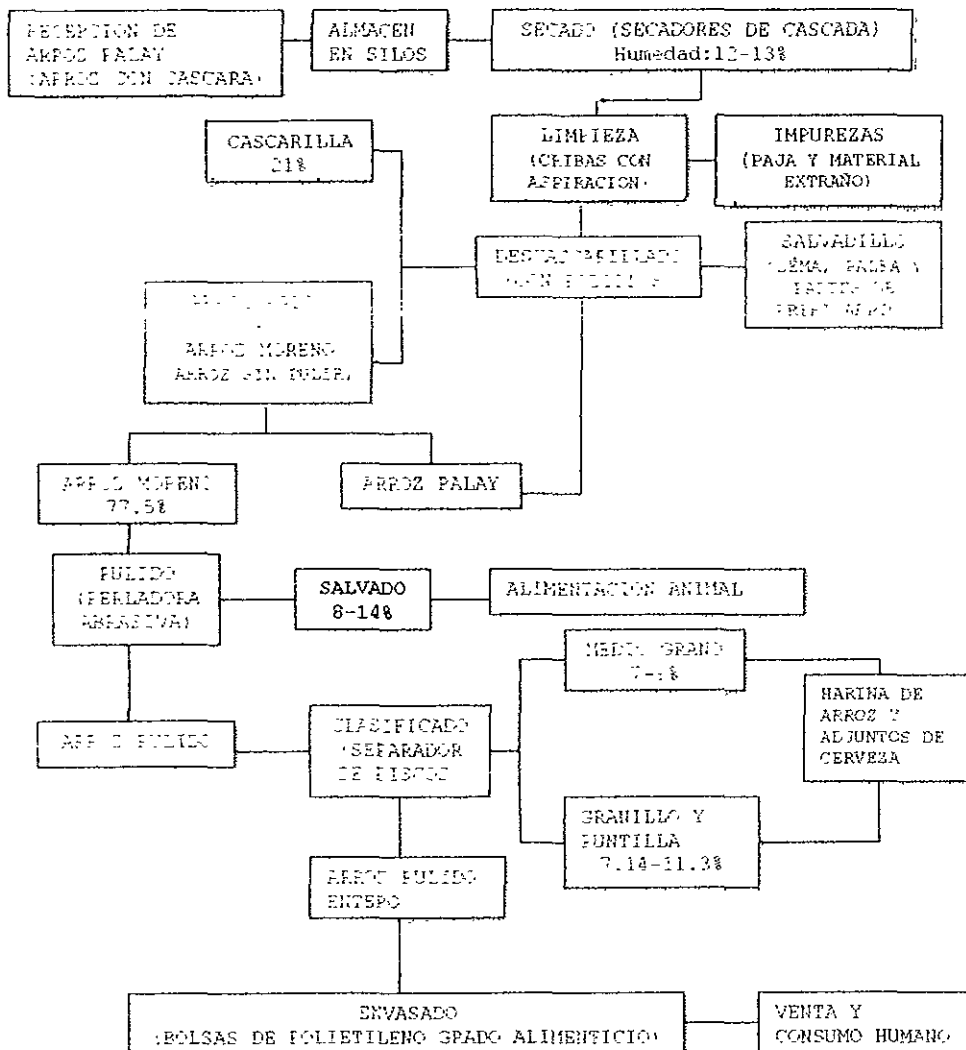
El porcentaje de impurezas aceptable es como máximo de 2%

Se acepta el arroz con una merma en su peso hasta del 3%

La operación de molturación se realiza en una instalación cuya construcción y funcionamiento es como sigue: DIAGRAMA 1

122 DESCRIPCION DEL PROCESO DE PULIDO DEL ARROZ

DIAGRAMA 1



SARH COORDINACION DE DESARROLLO INDUSTRIAL, 1993

La operación de molturación se realiza en una instalación cuya construcción y funcionamiento es como sigue:

- 1) Recepción e Inspección: se clasifica y pesa el arroz palay procedente de los centros de cultivo
- 2) Almacenamiento: se estiba por variedades de celdas montadas en un sistema de parrillas con un túnel de aireación.
- 3) Vaciado: se vacían los costales en la tolva de recepción en el centro de la bodega.
- 4) Transporte: se transporta a la sección de cribado y secado.
- 5) Cribado. en la cribadora se separan del arroz palay las impurezas (paja, piedras, tierra, etc.)
- 6) Secado. se repiten los pasos de secado tanto como sea necesario a través de un elevador reversible, por medio de columnas verticales, que tienen un movimiento continuo del producto.  
El movimiento se obtiene por medio de charolas y se regula por dispositivos particulares instalados en la base de las columnas. Hasta obtener un contenido de humedad de 12 -13%.
- 7) Almacenamiento temporal: el grano es depositado en el silo de donde se alimenta a la sección de molienda.
- 8) Pesado: se pesa el grano.
- 9) Transporte. el arroz una vez pesado pasa a una tolva
- 10) Limpieza: se le separan las impurezas metálicas, mediante separadores magnéticos, aspiradores y cribas con aspiración, dando como productos arroz palay, paja y material extraño.
- 11) Descascarado: se le quita la cáscara al arroz Existen diferentes tipos de descascarilladores en este caso, se procederá a explicar únicamente las máquinas descascarilladoras de rodillos, debido a que son las utilizadas por la *Compañía Arrocera Covadonga, S.A. de C.V.*, quien proporcionó el salvado para el presente trabajo.

Descascarillador de rodillos.- Tiene la función de retirar la cáscara por fuerzas de presión y abrasión que ejercen sobre el grano dos rodillos que giran a diferentes velocidades y direcciones opuestas. Con esta máquina se obtiene un porcentaje mayor de arroz entero, dando como productos una pequeña porción de arroz palay, arroz moreno entero, arroz moreno quebrado, cáscara y una fracción conocida como salvadillo, este contiene fragmentos de lemma, palea y partes de pericarpio.

12) Separado: se separa el arroz moreno y el arroz palay, de la cáscara. La mezcla proveniente de la descascarilladora pasa a través de una criba con aspiración, en el cual la cáscara se retira por medio de una corriente de aire que la lleva a un ciclón separador para su descarga final.

13) Selección: se separa el arroz palay del descascarado y el arroz moreno se envía a la torre de alimentación. Una vez separado el arroz moreno de la cascara, por medio de cribas oscilantes inclinadas, los granos limpios salen por el extremo inferior debido al mayor peso específico y por el extremo superior se queda la cáscara (con menor peso específico)

14) Pulido: en la máquina de blanqueo el grano se raspa por fricción para producir el pulido. El pulido a nivel industrial se puede realizar en 2 tipos de máquinas: abrasivas y de fricción, ambos tienen como principio retirar el salvado de arroz del arroz moreno, dando como producto el arroz blanco.

La utilizada en este caso es la máquina abrasiva que tiene como fundamento hacer pasar el arroz moreno entre una malla metálica, el salvado desprendido sale por una tubería y los granos blanqueados por otra.

15) Clasificado: se separa el grano de la harina.

16) Separado: esto se logra por medio de un separador alveolado donde se obtienen medios y tres cuartos de grano en el tambor. Posteriormente se pasan por cribas donde se separan los trozos más pequeños a los que se les conoce como puntillas, el arroz entero y los quebrados de



mayor tamaño pasan a cilindros alveolados donde se separan. Los granos quebrados conservan la forma del medio grano, pero no llegan a tener su tamaño, por esto es conocido como granillo, a esta máquina se le nombre clasificadora.

17) Pesado. se pesan los granos en la báscula dosificadora.

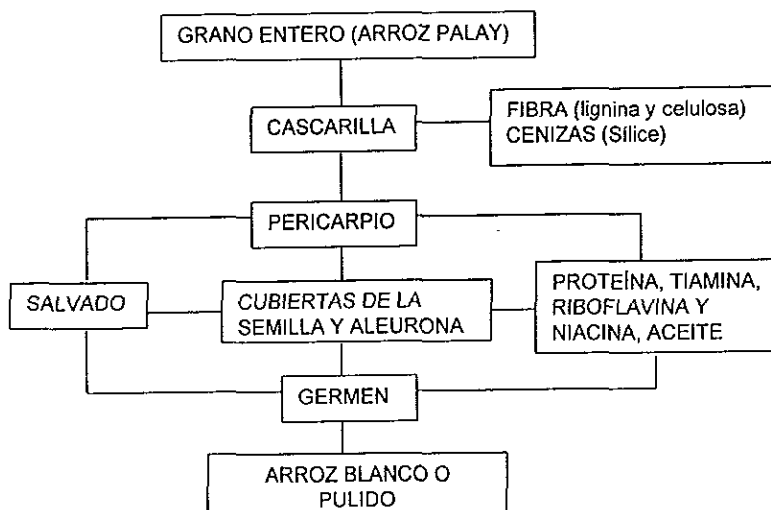
18) Almacenaje: se estiban los blancos en la bodega. (SEP/Trillas, 1993, Vázquez, S., 1987)

### 1 2 3 SUBPRODUCTOS DE LA MOLIENDA DEL ARROZ

Las cariopsides de arroz se recolectan con la cascara adherida, llamándose entonces arroz palay (arroz con cáscara). La cáscara, que constituye un 20% del peso bruto del arroz está formada por las cubiertas florales lemma y pálea. La cáscara es rica en celulosa (25%), lignina (30%), pentosanas (15%) y cenizas (21%). Un 95% de la ceniza es de sílice. Las grandes cantidades de lignina y de sílice son causa del bajo valor de la cascara.

El arroz moreno (arroz sin cáscara), participa de la estructura general de los demás cereales. Las cariopsides no tienen surco, su longitud varia entre 5 y 8 mm y el peso es de unos 25 mg. El arroz moreno está formado por pericarpio (2%), cubiertas de la semilla y aleurona (5%), germen (2-3%) y endospermo (89-94%). Como ocurre en los otros cereales, la capa de aleurona es la más externa del endospermo, aunque es eliminada, junto con el pericarpio y cubiertas de la semilla formando el salvado de arroz (Hoseney R., 1991).

DIAGRAMA 2 *Composición de las diversas capas del grano de arroz*



\*Hoseney R., 1991

La cascarrilla se utiliza para la fabricación de adobes, para alimento de los animales, como cama para aves y lechos en los establos, en las artesanías y también para la fabricación de sacos, cestos, papel y triplay. (Takei, T. 1977)

El arroz blanco o pulido se envasa en bolsas de 1Kg y se comercializa para consumo humano.

### 1.3 ANTECEDENTES DE PROTEÍNAS DE LOS CEREALES (MÉTODOS DE EXTRACCIÓN)

El aislamiento y purificación son requisitos necesarios para el estudio de una proteína, ya sea para caracterizar su estructura o su función biológica. Para esto se requieren varias etapas diferentes, cada una proyectada para eliminar una mayor proporción de material que no se desea de la fracción de la etapa previa hasta que, finalmente la proteína deseada se obtiene en forma pura. Ya que no hay un procedimiento universalmente aplicable a cada proteína, la elección de cada etapa debe determinarse solamente sobre la base de ensayos y errores. La situación más deseable implica el menor número de operaciones para producir un material puro. (Lew, E J.L, Houston, D.F., Fellers, D.A , 1975, Reyes, M.H., 1982, Saunder, R.M., 1974, Youseff, A.M., El Fouly, M.M., El-Baz, F K , 1974).

Existen diversos métodos para la cuantificación de las proteínas, todos ellos basados en algunas de sus propiedades físicas, como pueden ser los patrones de adsorción de las radiaciones electromagnéticas de grupos aromáticos, la reactividad del enlace peptídico, su contenido de nitrógeno, etc., con sus respectivas ventajas y limitaciones de acuerdo con el alimento de que se trate, la exactitud requerida, la disponibilidad de equipo, etc., (Lehninger, 1989).

Se han realizado numerosas investigaciones para obtener y caracterizar aislados proteicos del salvado de arroz en los cuales fue requisito indispensable obtener la fracción proteica del salvado lo más puro posible para facilitar su identificación. Los métodos son los siguientes:

- A) Extracción alcalina de pH 7 a 12 durante 1h a 25°C con una relación solvente harina de salvado de 7.5:1. El solvente utilizado fue agua destilada ajustada a los pH's con NaOH 0.1M. Se obtuvieron las condiciones óptimas de extracción a pH 11 con un rendimiento del 50.1% de proteína total. (Chen L. y Houston, 1970)
- B) Se basaron en el trabajo anterior pero aquí la variable fue el tiempo de extracción de 1h a 2h, además de que realizaron lavados de los extractos obtenidos con etanol para remover residuos no proteicos; con este procedimiento los extractos obtenidos cambiaron de color de

café a crema y se obtuvo un rendimiento de un 76% (Lew E.J.L., Houston D.F. y Fellers D.A., 1975)

- C) Se realizó una filtración en gel para las proteínas del grano de arroz extraídas de tres variedades diferentes: grano largo, mediano y corto. El trabajo desprende la presencia de cuatro tipos de albúminas de 10,000, 26,000, 49,000 y 195,000 (g/mol) y tres tipos de globulinas: 17,000, 76,000 y 135,000 (g/mol). (Iwasaki T Y cols, 1982).
- D) Se usó salvado de arroz desgrasado y con grasa, se realizó una solubilización de pH 2 a 10.5 en 3 medios de dispersión: agua destilada, 0.1M y 1.0 M de NaCl; se midió viscosidad, proteína soluble, propiedades emulsificantes y espumantes. Se observó que arriba y abajo del punto isoeléctrico aumentaba la solubilidad de las proteínas; a concentraciones bajas de sal disminuye la solubilidad y se presenta alteración de las propiedades funcionales. (Bera y Murkheje, 1989).
- E) 2 muestras de salvado de arroz fueron utilizadas, una de ellas tuvo un tratamiento térmico, ambas se tamizaron. Los resultados mostraron que la muestra estable (sin tratamiento térmico) presentó una baja extracción a tamaños de partículas grandes (75 – 150 micras). Ambas muestras tienen su máxima solubilidad a pH 8 (71.5 y 50.9% respectivamente). Ambas muestras fueron analizadas en un PAGE-SDS donde se observa que la muestra estable presenta bandas de 14 a 97 kDa, mientras que la muestra desestabilizada contiene únicamente bandas por debajo de 45 kDa, revelando la ausencia total de bandas de peso molecular por arriba de lo 45kDa lo cual confirma la desnaturalización causada por tratamiento térmico. (Gnanasambandam R Y Hettiarachchy N.S., 1995).
- F) Extracción alcalina con salvado de arroz desgrasado. Solubilizaron a pH 7 y 12 con rendimiento de proteína soluble de 33 y 82% respectivamente. (Prakash J., 1996).
- G) Extracción alcalina utilizando una solución de NaOH 0.0875M a pH 12.5 – 13.5 a 23°C. Este método tiene una recuperación de material proteico de alrededor de 50 – 60% de proteína total (Monta y cols, 1996).

- H) Tratamiento con  $\alpha$ -amilasa para remover el almidón presente en el salvado. Los rendimientos de este método son del 80 – 90% de material proteico. Morita y cols., 1996.
- I) Después de extraer la grasa presente en la muestra de salvado de arroz con éter etílico se procedió a obtener la fracción soluble por medio de cuatro solventes: 2% de NaCl, 70% etanol, 0.1M de ácido acético y 0.1M NaOH. (Hamada J.S., 1997).
- J) Una fuerte disociación con solventes compuesta de 0.1M ácido acético, 3M urea y 0.01M Bromuro de cetiltrimetilamonio (AUC), usando muestra de salvado desgrasado con butano. Este método ofrece una recuperación de material proteico del 77 – 80%. (Hamada J.S., 1997).

## 14 PROPIEDADES FUNCIONALES DE LAS PROTEÍNAS

### GENERALIDADES

La funcionalidad de una sustancia se define, en un sentido muy amplio, como toda propiedad, nutricional o no, que intervenga en su utilización (Bourgeois C.M., 1986, Fligner K.L., 1991). Las propiedades funcionales, denotan las características que gobiernan el comportamiento de las proteínas en los alimentos durante su procesamiento, almacenamiento y preparación en tanto afectan su calidad alimenticia y su aceptación (Kinsella, J.E., 1979, Kinsella, J.E., 1985 y Pomeranz, Y., 1985).

En forma mas concreta, las propiedades funcionales de las proteínas son las propiedades fisicoquímicas que les permiten contribuir a las características deseables de un alimento (Fox, P.F. y cols , 1983).

Las propiedades funcionales de las proteínas alimenticias, pueden clasificarse en tres grupos principales:

Propiedades de hidratación (dependiente de las interacciones proteína-agua)

Propiedades dependientes de las interacciones proteína-proteína

Propiedades superficiales

El primer grupo incluye propiedades tales como la absorción y la retención de agua, hinchado, adhesión, solubilidad y viscosidad (esta última se considera, frecuentemente como una propiedad hidrodinámica).

El segundo grupo interviene en fenómenos tales como la gelificación y formación de otras estructuras diferentes (fibras y pastas proteicas, por ejemplo).

El tercer grupo de propiedades se refiere a la tensión superficial de emulsificación y características espumantes de las proteínas.

El mejor conocimiento de la funcionalidad de una proteína, puede obtenerse cuando el constituyente proteico del sistema teórico a ensayar es una proteína única, purificada y de estructura natural conocida. Aunque los aislados proteicos contienen menos constituyentes no proteicos, como fueron expuestos a tratamientos importantes, su estructura inicial y funcionalidad pueden resultar afectadas.

Algunas propiedades funcionales típicas que desempeñan las proteínas se enlistan a continuación (TABLA 12).

TABLA No. 12 *Propiedades funcionales y su utilización en sistemas alimenticios*

PROPIEDAD FUNCIONAL	SISTEMA ALIMENTICIO	MODO DE ACCIÓN
SOLUBILIDAD	Bebidas	Solvatación de proteínas dependiente del pH
ABSORCIÓN DE AGUA Y FIJACIÓN DE AGUA	Carnes, salsas, panes, pasteles	Enlazamiento de agua por puentes de H, atrapamiento de agua sin goteo
EMULSIFICACIÓN	Embutidos, sopas, pasteles	Formación y estabilización de emulsiones grasas
ADSORCIÓN DE GRASA	Carnes, embutidos, donas	Fijación de grasa libre
ESPUMADO	Betunes, postres	Formación de películas estables para atrapar gas

Kinsella, 1979

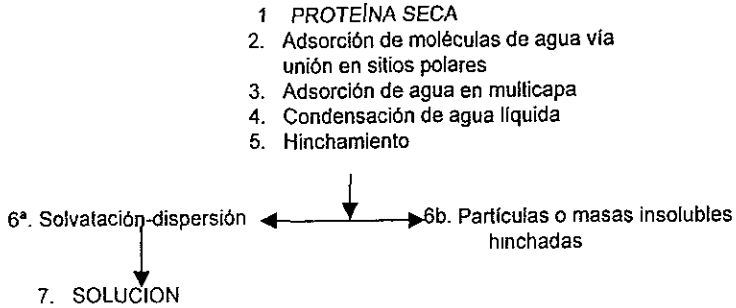
#### 1.4.1 HIDRATACIÓN

La conformación de las proteínas en solución depende grandemente de las interacciones con el agua. La mayoría de los alimentos son sistemas sólidos hidratados con un comportamiento fisicoquímico y reológico que depende de la presencia de agua, así como de la actividad de agua ( $a_w$ ).

Es importante considerar que tanto los aislados como los concentrados proteicos secos deben ser hidratados para su uso. Las acciones de rehidratación están secuenciadas según lo postulado en el siguiente cuadro:

CUADRO No.1

*Acción de rehidratación en concentrados y aislado proteicos secos*



Adaptado de Fennema, 1985

Es de interés práctico considerar esta hidratación progresiva ya que a ella están asociadas muchas propiedades funcionales.

Del paso 1 al 4 están relacionadas las siguientes propiedades: absorción de agua (también llamada fijación de agua, captación de agua o afinidad al agua), hinchamiento, capacidad de mojado (humectabilidad), retención de agua (capacidad de contención de agua), cohesión, adhesión.

Relacionadas al paso 5: dispersabilidad, viscosidad (o poder de espesamiento).

El estado final de la proteína, ya sea que quede soluble o insoluble, parcial o totalmente, se relaciona con otras propiedades importantes como:

La solubilidad, o la solubilidad instantánea (donde los primeros 5 pasos se llevan a cabo rápidamente).

La gelación que implica la formación de una masa insoluble bien hidratada, aunque se requiere de interacciones proteína-proteína muy específicas.

Y las propiedades de superficie como emulsificación y espumado que necesitan un alto grado de hidratación y dispersión proteica además de otras características.

## FIJACION DE AGUA

La capacidad de fijación de agua de las proteínas considera todos los tipos de agua de hidratación además de una fracción de agua remanente, aun asociada con la proteína después de la centrifugación.

El término agua fija (agua ligada) es usado ampliamente a pesar de no estar uniformemente definida. Podría denotar aquella agua que no se congela a una temperatura específica, agua que no está disponible como solvente, agua que muestra diferentes propiedades físicas o agua que se mueve con la macromolécula en una zona de sedimentación. El agua fija es realmente aquella agua en la vecindad de una macromolécula cuyas propiedades difieren detectablemente de aquellas de la fase de agua masiva en el mismo sistema (Kinsella, J.E. y cols., 1985).

La cantidad de agua fija en las proteínas oscila de 30 a 50g/100g de proteína; las proteínas globulares y fibrosas parecen tener una hidratación similar a pesar de las diferencias en solubilidades.

Varios factores afectan la fijación de agua en las proteínas:

- Composición de aminoácidos
- Conformación proteica (forma, tamaño)
- Topografía superficial
- Carga superficial y polaridad
- Concentración iónica
- Especies iónicas: aniónicas o catiónicas
- pH
- Temperatura



## 1 4 2 SOLUBILIDAD

Los datos sobre las características de solubilidad son muy útiles para poder determinar las condiciones óptimas de extracción y purificación de las proteínas, a partir de fuerzas naturales, así como la separación de fracciones proteicas. Esto se debe al hecho de que el grado de insolubilidad es, probablemente, la medida más práctica de la “desnaturalización-agregación” proteica y porque las proteínas que existen al comienzo en un estado desnaturalizado, parcialmente agregado, muestran frecuentemente un descenso de capacidad de gelificación, emulsión o formación de espumas.(Cheftel, J.C., Cuq J.L., y Lorient, D., 1989).

La solubilidad de una proteína es la manifestación termodinámica del equilibrio entre interacciones proteína-proteína y proteína-solvente. La solubilización ocurre por la dispersión de las moléculas de proteínas en el solvente. En otras palabras, la solubilidad está directamente relacionada con la naturaleza fisicoquímica de la superficie de la proteína, la cual a su vez es influenciada por el patrón de plegamiento de la cadena polipeptídica. La solubilidad depende principalmente del pH, la fuerza iónica, el tipo de solvente y la temperatura

La solubilidad de las proteínas en agua es función de una gran cantidad de parámetros. Desde el punto de vista termodinámico, la solubilización corresponde a la separación de moléculas de solvente, la separación de moléculas de proteína y la dispersión de estas últimas en el solvente con la máxima interacción entre la proteína y el solvente.

Para ser soluble una proteína debe ser capaz de interactuar lo más posible con el solvente (por puentes de hidrógeno, enlaces dipolo-dipolo y enlaces iónicos).

- Influencia del pH

En valores de pH diferentes al punto isoelectrico la proteína se carga positiva o negativamente y las moléculas de agua pueden interactuar con estas cargas contribuyendo a la solubilización.

Más aún, las cadenas proteicas con cargas eléctricas del mismo signo tienen una tendencia a repelerse y a disociarse o desenvolverse

Si la solubilidad de una proteína dada se grafica en función del pH, se obtiene normalmente una curva en forma de V o U, donde el mínimo corresponde cercanamente al  $pI$ . Este comportamiento indica cuales serían las mejores condiciones para disolver un número de proteínas especialmente de semillas.

Para poder utilizar las proteínas contenidas en las semillas se requiere de su extracción por medio de su disolución. La solubilidad y por tanto el rendimiento de extracción es mayor a valores alcalinos de pH; de hecho, el número de residuos cargados negativamente a valores de pH mayores al  $pI$  (asp. y glu.) es más grande que el número de residuos cargados positivamente a pH's menores del  $pI$  (lis, arg e his).

La solubilidad y extractabilidad a pH's alcalinos (o neutros) puede mejorarse incrementando la carga eléctrica neta de las proteínas. Es posible hacer reaccionar proteínas con moléculas anfipolares que tienen zonas hidrofóbicas y ionizadas, como dodecilsulfato de sodio, en cuyo caso los residuos hidrofóbicos de aminoácidos se convierten en acarreadores de cargas negativas.

Para valores de pH no lejanos al  $pI$ , las moléculas de proteína muestran mínimas interacciones con agua y sus cargas netas son suficientemente pequeñas para permitir a las cadenas polipeptídicas acercarse una a otra. A veces se forman agregados y esto puede llevar a la precipitación proteica. La velocidad de precipitación se mejora cuando las densidades de masa de los agregados difieren grandemente de las del solvente y cuando los diámetros de los agregados nuevamente formados son grandes.

- **Fuerza iónica**

Los iones de sales neutras, a molaridades del orden de 0.5 - 1M pueden incrementar la solubilidad de las proteínas. Este efecto se denomina "salting in" (solubilización por salado). Los iones reaccionan con las cargas de proteínas y disminuyen la atracción electrostática entre cargas opuestas de las moléculas vecinas. Además la solvatación intrínseca de estos iones sirve para incrementar la solvatación de las proteínas y por tanto, aumentar su solubilidad.

Si la concentración de sales neutras es mayor a 1M, la proteína disminuye en solubilidad, lo que puede terminar en precipitación (Cheftel, J.C. y cols., 1989). Este efecto se denomina "salting out".

(insolubilización por salado) y resulta de la competencia entre la proteína y los iones salinos por las moléculas de agua necesarias para sus solvataciones respectivas. Por tal motivo, las interacciones proteína-proteína se vuelven más poderosas que las interacciones proteína-agua y esto puede originar una agregación seguida de precipitación de las moléculas de proteína.

- Influencia de la temperatura (a pH y fuerza iónica constantes)

Como regla, la solubilidad de las proteínas aumenta con la temperatura entre 0 y 40-50°C. Arriba de estas temperaturas, el movimiento molecular es lo suficientemente fuerte como para romper los enlaces involucrados en la estabilización de estructuras secundarias y terciarias.

Esta desnaturalización es frecuentemente seguida por una agregación, en cuyo caso la solubilidad de la proteína se torna menor que la de la proteína nativa. Sin embargo, la capacidad de la proteína agregada para fijar agua se modifica solo levemente, a veces incluso se incrementa, principalmente por adsorción de agua en los capilares del coágulo o gel resultante.

CUADRO N.2  
Clasificación de las proteínas basada en la solubilidad

SOLUBILIDAD	NOMBRE	EJEMPLOS
Proteínas solubles en agua a pH de 6.6	ALBUMINAS	Albúmina de suero, albúmina de huevo, $\alpha$ -lactalbúmina
Proteínas solubles en soluciones diluidas de sal, pH 7	GLOBULINAS	$\beta$ -lactoglobulina
Proteínas solubles en 70% de etanol	PROLAMINAS	Zeína y gliadina
Proteínas insolubles en los anteriores y solubles en ácidos (pH 2) o álcalis (pH 12)	GLUTELINAS	Del trigo

Bourgeois, 1986

Desde el punto de vista práctico y tecnológico, es importante recalcar los siguientes aspectos:

- A) Las características de solubilidad son útiles para determinar las condiciones óptimas de extracción y purificación de proteínas a partir de fuentes naturales.
- B) La solubilidad es un buen índice de las aplicaciones potenciales de la proteína, ya que su grado de insolubilidad es la medida más práctica de su desnaturalización proteica y de su agregación. Hay una relación entre las proteínas inicialmente existentes en estado desnaturalizado y parcialmente agregado y su capacidad para participar en la gelación, emulsificación y espumado.

C) La solubilidad se ve marcada e irreversiblemente reducida cuando se involucra calentamiento (Zayas, J.F., 1994).

#### 1.4.3 EMULSIFICADO

La capacidad de las proteínas para actuar como surfactantes y estabilizadoras de espumas y emulsiones depende de su habilidad para adsorberse en una interfase (aire-agua y agua-aceite). Esta adsorción reduce la tensión superficial, ya que la proteína forma una película cohesiva entre las dos fases.

La adsorción de la proteína en las interfaces aire-agua y agua-aceite ocurre por un proceso de difusión controlada; la velocidad de adsorción depende del tamaño y forma de la molécula, de la viscosidad del solvente y de la temperatura. Esta difusión se facilita por el batido o la *homogeneización* (Kinsella, J., 1982, Kato, A., 1991, Zhu, H. Y Damodaran, S., 1994)

Las emulsiones son dispersiones de dos líquidos inmiscibles, uno de los cuales se encuentra bajo la forma de pequeñas gotitas dispersas en el otro líquido que constituye la fase continua dispersante (Cheftel y col., 1989).

Las proteínas se absorben en la interfase entre las gotitas de aceite disperso y la fase acuosa continua, y aportan propiedades físicas y reológicas (espesamiento, viscosidad, elasticidad-rigidez) que determinan la resistencia de las gotitas a la coalescencia. Así mismo, según el pH, se puede producir la ionización de las cadenas laterales de los aminoácidos y esto aporta fuerzas de repulsión electrostática que favorecen la estabilidad de la emulsión.

La función de las proteínas como agentes emulsificantes se mide por diferentes parámetros (Fligner, K. y Mangino M., 1991):

- 1 Estabilidad de Emulsión (ES), es el mantenimiento de una estructura y textura homogéneas del sistema. Esto se debe a la presencia de una capa interfacial estable, constituida por una *película de proteínas adsorbidas, que se oponen físicamente a la coalescencia de las gotitas.* Hay varias técnicas para determinar la estabilidad de emulsión, como la medición del grado de separación de aceite o crema de la emulsión durante un período de tiempo, a una temperatura y gravedad determinadas.

- 2 Índice de Actividad Emulsificante (IAE), se expresa como el área de interfase (determinada por mediciones de turbidez) estabilizada por unidad de peso de proteína.
  - 3 Actividad de emulsificación (AE), es el área de superficie total de la emulsión
  - 4 Capacidad de emulsificación (CE), es la máxima cantidad de lípido emulsificado por una dispersión proteica. El aceite se agrega en una proporción dada a una dispersión de proteína hasta que la viscosidad disminuye u ocurre una inversión de fases.
- Factores que influyen en la emulsificación

Las emulsiones son mezclas termodinámicamente inestables de sustancias inmiscibles. Cuando el agua y un lípido se mezclan hay una fuerte repulsión que limita su contacto y ocurre una separación de fases.

Las proteínas estabilizan emulsiones. Cuando los grupos hidrofóbicos se ponen en contacto mínimo con el agua para dar un estado energéticamente favorable, se origina una estructuración ordenada de moléculas de agua lo que resulta en la formación de pequeñas gotas.

Se cree que la adsorción de proteínas en la interfase ocurre en tres fases (Fligner, K.L. y cols., 1983).

- a) La proteína nativa se difunde a la región de contacto donde penetra a la interfase y resulta una desnaturalización de superficie.
- b) La proteína adsorbida se reorganiza para formar el estado de menor energía insertando grupos hidrofóbicos en la fase oleosa.
- c) Se forma una capa de proteína alrededor de los glóbulos de grasa.

La adsorción de proteínas en las interfases puede variar por factores como la flexibilidad conformacional, la hidrofobicidad y la viscoelasticidad de la capa interfacial.

Los cambios en el pH y la fuerza iónica pueden afectar las propiedades de hidrofobicidad alterando la conformación proteica

Existe una correlación entre la hidrofobicidad superficial y la actividad de emulsificación: una alta hidrofobicidad y una alta solubilidad serían importantes para unas propiedades de emulsificación

óptimas (medidas como IAE). Por otro lado, las proteínas parcialmente desdobladas que exponen sus grupos hidrofóbicos resultan en mejores propiedades de emulsificación.

- Las proteínas como estabilizantes de emulsiones alimenticias.

Un grupo numeroso de productos alimenticios esta constituido por emulsiones: leche, cremas, helados, mantequilla, queso fundido, mayonesas, embutidos, etc., donde los constituyentes proteicos tienen, frecuentemente, un papel preponderante en la estabilización de estos sistemas coloidales. La emulsión natural de la leche esta estabilizada por la membrana de glóbulos grasos que esta formada por capas sucesivas adsorbidas de triglicéridos, fosfolípidos, lipoproteínas insolubles y proteínas solubles.

Las proteínas se absorben en la interfase y aportan propiedades físicas y reológicas (espesamiento, viscosidad, elasticidad-rigidez) que determinan la resistencia de las partículas a la coalescencia. Así mismo, según el pH, se puede producir la ionización de las cadenas laterales de aminoácidos y esto aporta fuerzas de repulsión electrostática que favorecen la estabilidad de la emulsión

Generalmente, las proteínas son estabilizantes mediocres de las emulsiones agua/aceite. Esto puede atribuirse a la naturaleza fundamentalmente hidrófila de la mayoría de las proteínas, lo que hace que la mayor parte de una molécula proteica adsorbida se encuentre en la zona acuosa de la interfase (Cheftel, J.C., y cols., 1983).

#### 1 4 4 ESPUMADO

La formación de espuma es similar a la emulsificación. Para que ocurra la formación de la espuma, las moléculas, las moléculas de agua tienen que rodear burbujas de aire. Cuando las moléculas de agua son forzadas al contacto con aire relativamente no polar, tienden a ordenarse, lo que resulta en una alta tensión superficial y una alta energía en la superficie. Las proteínas decremantan esta energía al interactuar con ambos: aire y agua.

Las espumas inicialmente contienen un gran número de celdas pequeñas de aire separadas por una capa interfacial absorbida y de zonas de solución acuosa. Cuando la espuma transcurre, la

fase acuosa se drena y las celdas de aire se acercan unas a otras. Sin embargo, la presencia de la capa interfacial continua dando estabilidad aun después de un drenado considerable.

Durante el batido, las regiones hidrofóbicas de las proteínas interactúan con el aire y causan el desdoblamiento y exposición de los grupos hidrofóbicos escondidos. Esto baja la tensión superficial que permite la creación de mas burbujas.

- **Mecanismo y estructura**

Las espumas o batidos alimenticios son dispersiones de burbujas de gas en una fase continua líquida o semisólida que contiene un surfactante soluble. En numerosos casos, el gas es aire o eventualmente gas carbónico y la fase continua una solución o suspensión acuosa que contiene proteínas

En las espumas o batidos, hay una fase continua de capas líquidas delgadas, llamadas laminillas, que separa las burbujas de gas. La interfase gas/líquido puede alcanzar  $1\text{m}^2$  por mL de líquido. Al igual que en las emulsiones, se necesita energía mecánica para crear esta interfase.

Normalmente para mantener la interfase y evitar la coalescencia de las burbujas se necesita la presencia de agentes que bajen la tensión de la interfase (tensión superficial de la fase líquida, si es aire) y formen una barrera protectora elástica entre las burbujas de gas atrapadas. Algunas proteínas pueden formar una película protectora que se adsorbe en la interfase gas/líquido, en cuyo caso, la laminilla entre dos burbujas próximas esta constituida por dos películas proteicas separadas por una delgada capa líquida.

Las burbujas de gas de una espuma pueden variar mucho de tamaño, oscilando de un diámetro de  $1\mu\text{m}$  a algunos centímetros, a causa de numerosos factores tales como la tensión superficial y viscosidad de la fase líquida, el aporte de energía, etc. Normalmente, una distribución uniforme de burbujas pequeñas, da al alimento suavidad y ligereza, así como un aumento de la dispersión y perceptibilidad de aromas.

Para estabilizar las espumas son tres los factores más importantes que intervienen:

- una baja tensión entre fases
- una alta viscosidad de la fase líquida

- la presencia de películas de proteína adsorbidas resistentes y elásticas

La proteína espumante ideal debe poseer gran superficie hidrofóbica, buena solubilidad y baja carga neta al pH del producto alimenticio. Debe ser también fácilmente desnaturizable. Se pueden formar espumas estables cerca del punto isoeléctrico de la proteína donde la repulsión electrostática es mínima. Con algunas proteínas se observa un aumento de la estabilidad de la espuma, incluso a valores extremos del pH, debido probablemente al aumento de la viscosidad.

Las sales pueden influenciar en la solubilidad, viscosidad, desdoblamiento y agregación de las proteínas, por lo que pueden alterar las propiedades espumantes. A menudo, el NaCl aumenta la pérdida de líquidos y reduce la estabilidad de las espumas. Esto se debe, probablemente, a un descenso de la viscosidad de la solución proteica. Los iones  $Ca^{++}$  pueden mejorar la estabilidad al formar iones entre los grupos carboxílicos de la proteína.

La sacarosa, y otros azúcares reducen la expansión de la espuma pero mejoran su estabilidad, porque aumentan la viscosidad global de las espumas.

Con concentraciones mínimas de lípidos contaminantes (tan solo con 0.1%) se alteran fuertemente las propiedades espumantes de las proteínas

- Estabilidad de la espuma

La estabilización de una espuma requiere condiciones independientes de las necesarias para la formación de la misma. Tales condiciones pueden ser:

- a) La formación de una película proteica espesa, cohesiva, elástica, continua e impermeable al aire, en torno a cada burbuja de gas. Se considera que las proteínas globulares de masa molar elevada, que se resisten parcialmente al desdoblamiento en superficie, producirán películas adsorbidas sólidas, con buenas propiedades reológicas superficiales y películas muy estables.
- b) Para la formación de estas películas estables, tienen que asociarse entre sí en la interfase varias capas de proteína parcialmente desdobladas, mediante interacciones hidrofóbicas o posiblemente por interacciones de puentes de hidrógeno o electrostáticas. Aparentemente, debe existir un equilibrio crítico entre la capacidad de la proteína a sufrir interacciones intermoleculares cohesivas que permitan obtener películas estables y la tendencia de las



proteínas a asociarse entre sí, lo que motiva una agregación excesiva y la ruptura de las laminillas.

- c) La proteína debe adsorberse fuertemente en la interfase aire/agua mediante interacciones hidrofóbicas, para evitar la desorción de la proteína y por tanto, la pérdida de líquido.
- d) Se necesita una flexibilidad y movilidad de las moléculas proteicas que sea suficiente para contrarrestar las fuerzas de deformación, la extensión de la interfase y la fragilidad de las laminillas. Cualquier extensión en la interfase provoca una disminución de la concentración de moléculas adsorbidas en ella y un aumento de la tensión interfacial.
- e) Las proteínas deben ser capaces de emigrar de una región de tensión interfacial baja hacia otra región de tensión interfacial elevada, englobando entre ellas las moléculas de agua subyacentes y restableciendo así el espesor inicial de la laminilla: efecto Marangoni; es decir, que las cadenas laterales o los haces polipeptídicos polares de la película proteica fijen el agua de las laminillas y disminuyan la pérdida por salida de líquidos.

#### 1.4.5 OTRAS PROPIEDADES FUNCIONALES

- AGREGACIÓN

Sus reacciones afectan a modificaciones que alcanzan el nivel de subunidades o de la molécula de proteína.

- COAGULACIÓN

Reacciones de agregación no ordenadas que se producen con desnaturalización y en las que predominan las reacciones de agregación o las interacciones proteína-proteína con relación a las interacciones proteína-disolvente, esto conduce a la formación de un gran coagulo.

## 1 4 6 PROPIEDADES FUNCIONALES Y SU RELACIÓN CON LA ESTRUCTURA Y FUNCIÓN DE LAS PROTEÍNAS

En estas propiedades de las proteínas se relacionan las características fisicoquímicas y estructurales, tales como tamaño, forma, composición y secuencia de aminoácidos, carga neta, distribución de cargas, relación hidrofobicidad/hidrofilicidad, estructuras, secundaria, terciaria y cuaternaria, y los cambios en la estructura de toda la molécula por condiciones ambientales (Damodaran, S., en Hettiarachchy y Ziegler, 1994).

La composición de aminoácidos de las proteínas también tiene relación sobre las diferentes propiedades funcionales. Las proteínas que tienen un alto contenido de prolina tienden a existir en un estado desordenado. La distribución uniforme de estos residuos en la secuencia de aminoácidos efectivamente excluye la formación de estructuras ordenadas, tales como alfa hélice u hojas-beta. En general las proteínas con una alta flexibilidad exhiben múltiples propiedades funcionales, tales como gelatinización, espumado y propiedades emulsificantes (Damodaran, S., en Hettiarachchy y Ziegler, 1994).

La hidrofobicidad es una de las variables estructurales más importantes utilizadas para predecir la funcionalidad de proteínas alimenticias, ya que puede prever la relación entre estructuras y actividad o reactividad. La hidrofobicidad guarda relación con la solubilidad y la frecuencia de carga, así como con la tensión interfacial y la actividad de emulsificación (Nakai y col., 1991).

La forma y distribución de las zonas polares y no polares en la superficie proteica determina significativamente las diferentes propiedades funcionales, tales como la solubilidad, la tendencia para formar estructuras oligoméricas y micelares, así como las propiedades de superficie activas.

Las diferentes propiedades funcionales de las proteínas alimentarias son manifestaciones de dos aspectos moleculares (Damodaran, 1989): la superficie de la proteína (y propiedades relacionadas) y las propiedades hidrodinámicas. Las propiedades funcionales que son afectadas por estos aspectos moleculares se enlistan en la siguiente tabla. Las propiedades relacionadas con la superficie son gobernadas por la hidrofobicidad, la hidrofilicidad y las propiedades estéricas de la

superficie proteica Las relacionadas con las propiedades hidrodinámicas son gobernadas por su tamaño, forma y flexibilidad

TABLA No. 12

*Propiedades Funcionales de Proteínas Alimentarias en relación con su comportamiento molecular*

Relacionadas con la Superficie de la Proteína	Relacionadas con las propiedades hidrodinámicas
Solubilidad	Viscosidad
Humectabilidad	Capacidad espesante
Dispersabilidad	Gelatinización
Espumado	texturización
Emulsificado	
Retención de grasa y sabor	

(Damodaran, S., en Hettiarachchy y Ziegler, 1994)

El conocimiento actual de las propiedades funcionales se basa en la conducta individual de proteínas en sistemas modelo simples. Los resultados obtenidos de tales modelos a menudo fallan en la predicción de su conducta en alimentos reales preparados bajo procesos industriales. Los cambios conformacionales que ocurren bajo las condiciones del proceso industrial y la interacción de las proteínas con otros constituyentes de los alimentos, a menudo hace imposible el trasladar los resultados del sistema modelo para predecir la conducta de proteínas en un sistema complejo de alimentos (Harper, 1984, Dewit, 1989, en Hettiarachchy y Ziegler, 1994).

La importancia de las propiedades funcionales de componentes básicos en alimentos depende del tipo de alimentos por ejemplo, emulsiones fluidas, polvos, salsas emulsificadas o pastas. La solubilidad de la proteína, la retención de agua, la capacidad emulsificante y la capacidad de unir grasa de la proteína como un componente básico de alimentos determina la calidad (jugosidad, textura, adherencia, apariencia) y el rendimiento del producto final (Zayas, J.F., 1994).

## CONCLUSIONES DE INVESTIGACION TEÓRICA

En resumen podemos decir que el salvado de arroz es una buena fuente de proteínas (entre un 14 – 18 %) pero también presenta en su composición una considerable cantidad de lípidos (mas del 17%) que pueden provocar descomposición por acción de lipasas presentes que pueden provocar una liberación de radicales libres por medio de la oxidación de ácidos grasos, estos pueden modificar las características tanto físicas como químicas del salvado; la presencia de grasa en el salvado de arroz interfiere con la extracción y purificación de las proteínas pero le confiere al sistema propiedades funcionales interesantes (como emulsificantes), por otro lado, se tiene en mayor proporción a los carbohidratos solubles los cuales contribuyen a la formación de complejos carbohidrato – proteína (que son difíciles de separar).

La homogeneización del tamaño de partícula y el procedimiento de desgrasado de la muestra resulta un papel fundamental para una mejor manipulación y manejo del salvado así como para la obtención de mejores rendimientos de proteína.

Los métodos de extracción y obtención de proteínas del salvado se limitan a la solubilización de la *materia prima* en soluciones alcalinas ( entre pH 8 y 10) debido a que a estos pH's se obtienen los mayores rendimientos de proteína solubles. Las diferentes fracciones proteicas del salvado de arroz son: glutelinas (solubles en álcalis como NaOH), globulinas (solubles en soluciones salinas diluidas), albúminas (solubles en agua a pH's alcalinos) y prolaminas (solubles en solubles en etanol al 70%) lo cual permite una extracción secuencial que resulta más selectiva.

La optimización de las técnicas de extracción consiste en variar los tiempos, el tiempo, el tipo de solvente, la relación harina.solvente durante la solubilización del salvado de arroz; estos procedimientos continúan estudiándose y se mantiene el interés por el estudio de las proteínas presentes en el salvado de arroz debido a que este subproducto de la industria arrocera representa *miles de toneladas por año que repercuten en pérdidas de miles de millones de pesos* y se busca la forma de aprovechar y utilizar este tipo de materia prima la cual representaría inversiones extras de dinero y una reducción considerable en la contaminación de este tipo de industrias, el estudio

prosigue en buscar metodologías sencillas y rápidas que permitan la extracción y obtención de componentes de interés (proteínas), estudiando sus propiedades funcionales, así como su aplicación en sistemas alimenticios.

## OBJETIVO GENERAL

CARACTERIZAR LAS PROPIEDADES FUNCIONALES Y ELECTROFORETICAS DEL AISLADO PROTEICO DEL SALVADO DE ARROZ TIPO MILAGRO-FILIPINO.

## ☞ OBJETIVOS PARTICULARES

- 1 Caracterizar bioquímicamente la materia prima (proteína, grasa, humedad, cenizas, fibra cruda y pH)
2. Evaluar la solubilidad de las proteínas a diferentes pH's y con diversas condiciones de extracción (disolvente, tiempo, rel. harina-agua).
- 3 Elaborar un análisis electroforético en geles de poliacrilamida-SDS de las proteínas solubles presentes en el salvado de arroz vs pH
- 4 Realizar la extracción de las proteínas del salvado de arroz.
5. Evaluar las propiedades funcionales del salvado de arroz así como las del aislado proteico del salvado de arroz: solubilidad, capacidad de absorción de agua y de aceite, humectabilidad, capacidad y estabilidad de la espuma, estabilidad e índice de actividad emulsificante, coagulación y agregación de proteínas

## CAPÍTULO II

### METODOLOGÍA

#### 2.1 CARACTERIZACIÓN DE LA MATERIA PRIMA

Para el desarrollo experimental de este trabajo se utilizó salvado de arroz de la variedad denominada Milagro-Filipino proporcionado por la *Compañía Arrocería Covadonga S.A., de C.V.* Se almacenó en recipientes de 10Kg, herméticos, no translúcidos y se guardaron a 4°C en total oscuridad para evitar posible deterioro por contaminación microbiana o descomposición de grasa.

##### 2.1.1 Homogeneización de la materia prima

La muestra se molió manualmente en mortero de porcelana, se tamizó con malla No. 60, cuantificándose el rendimiento

##### 2.1.2 Desgrasado

El salvado de arroz se desgrasó por lotes de acuerdo a la técnica del A.O.A.C., 1993 (3 lavados) con Hexano (reactivo Baker) en una relación de harina-hexano de 1:8 para el primer lote, el segundo y tercero se realizó de 1.4 con agitación magnética constante y a temperatura ambiente, estas relaciones provocan que en la primera extracción se logre obtener la mayor cantidad de grasa presente en la muestra y las siguientes para recuperar la grasa residual y la harina se seco a temperatura ambiente para terminar de volatilizar el hexano. Finalmente, para estandarizar el tamaño de partícula se tamizó con malla No. 40.

##### 2.1.3. Análisis Proximal de la materia prima

Se llevaron a cabo las siguientes determinaciones, de acuerdo a los métodos de la AOAC (1989)

Determinación de humedad, contenido de cenizas, proteína cruda, grasa cruda o extracto etéreo por el método de Soxhlet y determinación de fibra cruda. La determinación de los carbohidratos totales se obtuvieron por diferencia

Las determinaciones se efectuaron sobre el salvado nativo (materia prima), el salvado resultante de la homogeneización y desgrasado (para observar si el tamaño de partícula afectaba los análisis químicos y si el procedimiento de molienda y/o tamizado causaban alguna pérdida de nutrimentos y al aislado obtenido por el método químico (para observar la eficiencia de la extracción y verificar si los demás nutrimentos sufrieron alguna modificación)

En todos los casos se realizó por triplicado cada determinación, se obtuvo un promedio las tres mediciones así como su desviación estándar.

#### 2.1.4 Análisis microbiológico

Se realizó la detección de coliformes totales, mesófilos aerobios y hongos y levaduras, estas pruebas se realizaron tanto a la muestra de salvado nativo como al aislado obtenido por extracción química. (NMX-F-254, NMX-F-253 y NMX-F-255-1982, respectivamente).

#### 2.1.5 Determinación del pH

Una suspensión al 10% de salvado nativo y de aislado se mezcló con 50mL de agua destilada pH 7 con agitación magnética durante 30 minutos a 20°C y su valor de pH se registró con un potenciómetro Orion (AOAC, 1984).

La evaluación de pH se hizo por triplicado para cada muestra y se obtuvo el promedio y desviación estándar.

## 2.2 SOLUBILIDAD DE LAS PROTEÍNAS DEL SALVADO DE ARROZ

### 2.2.a Curvas de solubilidad en función del pH

La solubilidad de las proteínas se determinó de acuerdo a la estrategia propuesta por Popineau y col. (1988). Se preparó una suspensión del salvado de arroz molido desgrasado y tamizado con un nivel de proteína del 1% (p/v) en un volumen de 30mL de disolvente, y se ajustó a diferentes valores de pH, desde 2 hasta 12, con HCl 1N (Merck) y NaOH 1N (Baker)

El valor de pH se registró con un potenciómetro marca Orion. Esta suspensión se agitó orbitalmente a 120 r.p.m. durante 30 minutos a una temperatura de 32°C. Se ajustó de nuevo el pH, se aforó y se agitó por 30 minutos más. Enseguida se registró el valor de pH y se procedió a determinar la solubilidad de las proteínas en el sobrenadante por la técnica de Lowry-SDS (Peterson, 1977), tras centrifugar la suspensión a 10,000 r.p.m. por 30 minutos en una centrifuga Beckman J2-MC.



#### DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA SOLUBLE:

- a) SOLUBLE. Se llevó a cabo por el método modificado de Lowry-SDS, cuyo principio es la reacción de las proteínas con el ion  $\text{Cu}^{+2}$  en medio alcalino. El color azul se potencia con el reactivo Folin. La absorbancia se lee a 750nm. (VER TÉCNICA ANEXO II).
- b) INSOLUBLE. Considera un paso previo de solución alcalina a 100°C de las proteínas de las muestras. Posteriormente el método de Lowry de acuerdo a lo reportado por García y Vázquez (1988).

Los disolventes fueron seleccionados de acuerdo a los trabajos referidos en la página 20:

- i) Agua destilada
- ii) NaCl 0.05M
- iii) NaCl 0.1M
- iv) NaCl 0.5M

Los datos obtenidos por Lowry-SDS para cada pH se sometieron a un análisis de varianza con el paquete estadístico Statistics Program Social Sciences (SPSS).

#### 2.2 b Electroforesis

La separación de proteínas se llevó a cabo por el método SDS-PAGE (electroforesis en gel de poliacrilamida con SDS) reportado por Laemmli (1970). Bajo estas condiciones desnaturalizantes, la migración de las proteínas se determina por peso molecular, no por carga. El SDS es un detergente que confiere a las proteínas una carga neta negativa. Este efecto, unido al tratamiento con un agente reductor ( $\beta$ -mercaptoetanol), hace que las proteínas se comporten como partículas lineales con igual densidad de carga. El pH del sistema se amortigua con buffer de Tris a pH 6.8.

El gel de poliacrilamida consta de dos zonas una zona de concentración (4% acrilamida, pH 6.8) y otra donde se lleva a cabo la separación de las proteínas (10% acrilamida, pH 8.8). Es importante hacer notar que durante la electroforesis las proteínas no se dañan.

Todas las muestras analizadas, provenientes de las curvas de solubilidad con agua destilada y NaCl al 0.05, 0.1 y 0.5M, tuvieron una etapa de concentración previa a la electroforesis para lo cual se evaluaron cuatro métodos de concentración de muestras:

- A) **Diálisis con glicerol.** Las muestras de proteína soluble son vaciadas en bolsas de diálisis marca *Spectrapor, Arthur Thomas Company* (membrana tubular, de exclusión de 12,000 Da) y sumergidas en un vaso lleno de glicerol. Por diferencia de concentraciones dentro y fuera de la bolsa de diálisis se concentra la muestra (fenómeno de ósmosis).
- B) **Sistema de ultrafiltración en celdas marca Amicon.** A la celda se le coloca una membrana YM 100 con un tamaño de poro de 100, 000 D donde se encuentra la muestra, esta membrana permite eliminar los compuestos menores a este PM y permite pasar el paquete proteico mediante una presión positiva con gas nitrógeno.
- C) **Precipitación con TCA.** A la muestra de proteína soluble se le agrega TCA al 50% es sometida a centrifugación a 10 000 r.p.m. (en una relación de 1mL de muestra por 250  $\mu$ L de TCA) posteriormente se incuba durante 3hr a temperatura ambiente (precipitación de las proteínas); por ultimo, el precipitado es lavado con acetona y nuevamente sometido a centrifugación para eliminar residuos de TCA.
- D) **Spin Vac.** Es un aparato que sigue el fundamento de la centrifugación con evaporación. Las muestras son colocadas en tubos eppendorfs de 2.5mL y se llevan a secar en el Spin Vac. Se toma el tiempo requiendo para la eliminación del 97% del agua presente en cada muestra.

#### 2.2 c Ajuste de condiciones para la extracción de los patrones de las proteínas

Con los resultados obtenidos del análisis estadístico y los patrones de electroforesis realizados con cada disolvente a diferentes pH se evaluó el efecto de la relación harina/disolvente así como el efecto del tiempo de extracción sobre la solubilidad de las proteínas del salvado de arroz, según los siguientes diseños experimentales:

i) Efecto de la relación harina/disolvente

- Disolvente: agua destilada
- pH 10
- Temperatura: 30 – 35°C
- Relaciones: 1/15, 1/30 y 1/45
- Agitación a 150 r.p.m.

ii) Efecto del tiempo de extracción

- Disolvente: agua destilada
- pH 10
- Temperatura: 30 – 35°C
- Relaciones. 1/15, 1/30 y 1/45
- Tiempos: 20, 40 y 60 minutos (para cada relación harina-agua)

Los datos obtenidos de estos diseños fueron sometidos a un análisis de varianza con el paquete estadístico Statistics Program Social Sciences (SPSS).

## 2.3 AISLADO PROTEICO DEL SALVADO DE ARROZ

### 2.3.1 PASTEURIZACIÓN DEL AISLADO PROTEICO

Una vez obtenidas las condiciones óptimas de extracción (pH, disolvente, tiempo, temperatura, relación harina-agua), se procedió a realizar la solubilización de las proteínas del salvado de arroz en cantidades mayores (aproximadamente 1Kg de harina); el sobrenadante obtenido del proceso de extracción se ajustó a pH 7 con HCl 1N. A continuación se realizó un tratamiento térmico a 62.7°C durante 30 minutos con el fin de reducir la cuenta de microorganismos presentes en la muestra, por último, el sobrenadante (contenido en matraces Erlenmeyer de 500mL con aproximadamente 300mL del líquido) ya pasteurizado se sometió a ultracongelación con un baño de acetona y hielo seco (choque térmico) que posteriormente fueron guardados en un congelador a -40°C previo a su proceso de liofilización.

## 2.3.2 LIOFILIZACIÓN

Las muestras congeladas fueron secadas en una liofilizadora LABCONCO FREEZE Drive System-Freeze 4.5 la cual elimina el agua presente en la solución proteica por medio de una bomba de vacío a bajas temperaturas (fenómeno físico de secado sublimación) lo que permite concentrar los demás componentes existentes en la muestra. Cada 1.2L de líquido tarda en secarse entre 3 y 4 días.

## 2.4 DETERMINACIÓN DE PROPIEDADES FUNCIONALES

Las metodologías empleadas para determinar algunas propiedades funcionales fueron aplicadas tanto a la harina de arroz desgrasada y tamizada como al aislado proteico obtenido bajo las condiciones ideales que se encontraron con los experimentos anteriores.

- A) Capacidad de absorción de agua (CAA) y de aceite (CAO) (Quinn y Paton, 1979). Es la cantidad máxima tanto de agua como de aceite que un gramo de muestra es capaz de retener en su estructura interna. La capacidad de absorción se expresa en mL de agua absorbida/g de muestra ó mL de aceite absorbido /g de muestra (VER TÉCNICA ANEXO II)
- B) Solubilidad (Popineau y col , 1988). Esta propiedad descrita en la pagina 26 consiste básicamente en observar dentro del rango de pH ya establecido anteriormente las proteínas que son solubles en cada punto y medir rendimientos con el método de Lowry-SDS. (VER TÉCNICA ANEXO II)
- C) Humectabilidad. (Balmaceda E.A., 1984) Es una medida meramente cualitativa de la afinidad de una muestra (sólida) al contacto con el agua, observando que tan dispersa puede encontrarse después de un determinado tiempo; verificando posteriormente cual es la homogeneidad de ambas fases en el equilibrio de la solución .(VER TÉCNICA ANEXO II)
- D) Índice de Actividad Emulsificante (IAE) (Pearce y Kinsella, 1976). Se prepararon suspensiones de salvado en que se varía la concentración de proteína desde 0.1% a 5% (p/v), a pH 7. El IAE se determinó tras mezclar tres partes de la suspensión del salvado de arroz con una parte de aceite. La emulsión se realiza con agitación mecánica intensa en un homogeneizador a 20,500 r.p.m durante 30 segundos. La emulsión preparada se diluye en una solución de SDS 0.1%-NaCl 0.1 M Ph 7, y la turbidez de esta dilución se lee a 500 nm en el espectrofotómetro (Perkin Elmer modelo Lambda 3

El IAE se calcula de la siguiente manera: .(VER TÉCNICA ANEXO II)

$$\text{I.A.E.} = 2 T D / \square C \text{ (en m}^2/\text{g)}$$

Donde:

T = turbidez 2.303 D.O./L

D = factor de dilución

$\square$  = fracción volumétrica de la fase apolar dispersa (aquí 0.25)

C = concentración de la solución de proteína, en (g/m<sup>3</sup>)

- E) Estabilidad de Emulsión (EE) (Dargorn Scaviner y col., 1988). Se midió la resistencia de una emulsión a la coalescencia ante una fuerza centrífuga midiendo el volúmen de la fase de aceite que se separa (vs). Se preparon emulsiones con diferentes concentraciones de proteína de la suspensión de salvado de arroz, en un rango de 0.1% a 5% de proteína, en un pH 7. Se mezclan tres partes de una suspensión del salvado de arroz con una parte de aceite; las emulsiones se realizaron en un homogeneizador a 20,500 r.p.m. durante 2 minutos. Las emulsiones se vaciaron a tubos cónicos graduados y se centrifugaron a 1000 r.p.m. durante 10 minutos. (VER TÉCNICA ANEXO II)

La cuantificación se realizó con la siguiente fórmula:  $RC = Vs/Vi \cdot 100$

Donde:

RC = resistencia a la coalescencia (en %)

Vs = fase de aceite separado (mL)

Vi = volúmen inicial de aceite en la emulsión que en este caso es 3 mL

- F) Capacidad de Batido y Estabilidad de la Espuma (Lin y Humbert, 1974). La preparación de las muestras es el mencionado en las técnicas de IAE y de EE (preparación de soluciones con 0.1, 0.5, 1.0 y 5.0% de proteína con un buffer a pH 7 y 4), los cuales fueron homogeneizados a 20,500 rpm/2min (batido). Se midió el volúmen obtenido de espuma para cada caso con una probeta al inicio para observar la calidad del batido y posteriormente a diferentes tiempos para ver la estabilidad de la espuma formada (1, 10, 30, 60 y 120 minutos). .(VER TÉCNICA ANEXO II)

- G) Coagulación de las proteínas por calor (HC) (Myers, D J. y col , 1994) Se prepararon soluciones de proteína al 1, 3, 5, y 7,% a pH 7 y 4; las cuales se agitaron durante 1hr a 35°C, las soluciones se sometieron a centrifugación a 10,000 r.p.m./30min, el sobrenadante se calentó a 90°C/20min. Nuevamente se centrifugaron las muestras que posteriormente fueron filtradas con papel filtro No 2 (vel. media y retención cristalina). Los sobrenadantes obtenidos antes y después de calentar se les determinó el rendimiento de proteína por el método de Lowry. (VER TÉCNICA ANEXO II)
- H) Agregación ordenada de proteínas (Hangsprabhas P. Y Barbuts, 1977) Se tienen las mismas soluciones de proteínas que en la técnica de coagulación, después de acondicionar las muestras a 35°C/1h y centrifugar a 10,000 r.p.m /30min, el sobrenadante obtenido se calentó a 30°C/30min y reposando toda la noche a 4°C. Se realizaron diluciones 1:2 (1mL sobrenadante + 2mL solución CaCl<sub>2</sub>) las cuales se mezclaron manualmente y se dejaron reposar durante 30min. Finalmente las muestras fueron leídas en un espectrofotómetro (Perkin Elmer modelo Lambda 3) a 400nm. (VER TÉCNICA ANEXO II)

## CAPÍTULO III

### RESULTADOS Y ANÁLISIS

#### 3.1 DESCRIPCIÓN DE LA MATERIA PRIMA.

Las condiciones de almacenamiento (recipiente hermético a 4°C) fueron adecuadas para la conservación del salvado de arroz; ya que no se presentó contaminación microbiana (presencia de moho) ni aroma a rancio

##### 3.1.1 HOMOGENEIZACIÓN DEL SALVADO DE ARROZ

La granulometría realizada al salvado de arroz nativo (Fig. 1 Tabla No 1 ANEXO I) nos muestra la distribución en el tamaño de las diferentes partículas que se encuentran en el salvado de arroz después del proceso de pulido, las fracciones más importantes por su concentración son dos: la primera presenta un tamaño de partícula mayor de 600 micras; esta fracción contiene principalmente residuos de paja, piedras, insectos, pedazos de hojas, limadura de fierro y una mínima parte de cascara y trozos de endospermo pulido, representa el 27.42% de los sólidos totales que contiene el salvado de arroz. Los sólidos restantes se distribuyen de 425 a 180 micras una fracción con mayor porcentaje de sólidos (58.00%); para fines de este estudio se decidió desechar la fracción con partículas mayores a 425 micras esto nos permite limpiar nuestra materia prima y trabajar con el resto fijando esta malla (no. 40) como límite de exclusión que es lo recomendable para harinas. Esta fracción se molió en mortero para homogeneizar aún más, el resultado es una harina de tamaño de partícula mas fino y homogéneo.

##### 3.1.2 DESGRASADO DEL SALVADO DE ARROZ.

El proceso de desgrasado por lotes resultó en un método de fácil manejo pero costoso por el consumo de hexano (relación harina/hexano de 1/8) además del tiempo requerido para desgrasar (2 h por cada 100g de muestra); la eficiencia se observa en el contenido de grasa del salvado desgrasado (ver Tabla No. 14 Análisis Proximal de las muestras de salvado de arroz) de un 17.5% baja a 4.6%.

El rendimiento en la obtención de una harina de salvado de arroz homogénea limpia y sin grasa es del 66.4% es bajo y es lógico por el contenido de basura resultado del mismo proceso de pulido del arroz. Aún así la proteína se concentra (1.2 veces) como resultado de la eliminación de la grasa 74% y también a que el contenido de humedad se reduce un 22.4%.

fig. 1  
SALVADO DE ARROZ NATIVO

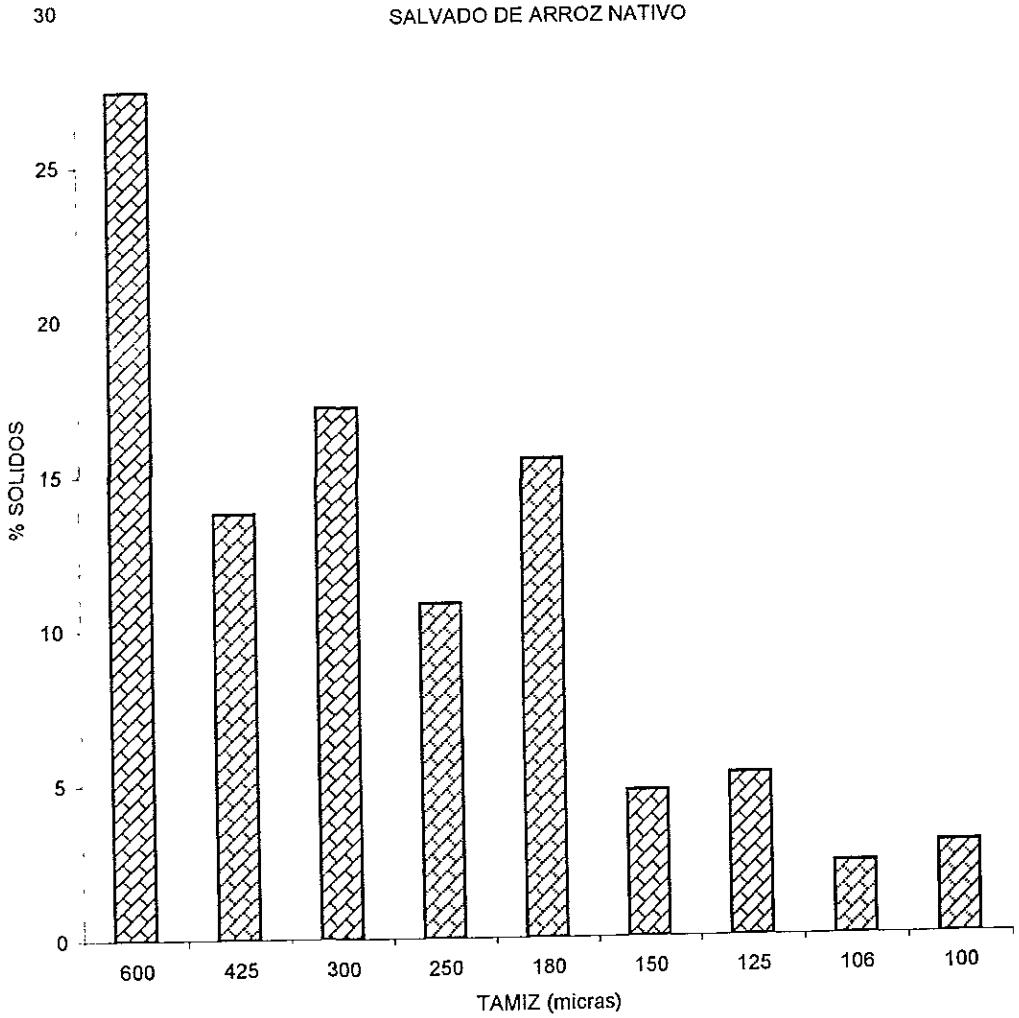


FIG 1  
GRANULOMETRIA DEL SALVADO DE ARROZ NATIVO  
TAMIZ (micras) vs % SÓLIDOS RETENIDOS  
(TABLA No. 1 ANEXO I)



### 3 1 3 CARACTERIZACIÓN BIOQUÍMICA Y MICROBIOLÓGICA DEL SALVADO DE ARROZ.

Análisis proximal Se analizaron tres muestras con características físicas diferentes:

- A) Salvado de arroz nativo, con tamaños de partículas heterogéneas, color café oscuro y apariencia granular
- B) Salvado de arroz molido, desgrasado y tamizado con partículas más pequeñas y homogéneas, de color café claro.
- C) Aislado proteico de salvado de arroz, harina color crema con partículas muy finas.

Cabe aclarar que el factor de conversión de porcentaje de Nitrógeno a porcentaje de proteína fue del 5 95 Los resultados se presentan en la siguiente tabla.

**TABLA N. 14**  
Análisis proximal de las muestras de salvado de arroz

TRATAMIENTOS	HUMEDAD %	PROTEÍNA %	GRASA %	CENIZAS %	FIBRA %	CHO's %	TOTAL
SALVADO NATIVO	6.7	13.86	17.5	7.8	4.5	49.6	99.93
SALVADO DESGRASADO Y HOMOGENEIZADO	5.2	16.89	4.6	9.7	7.9	55.7	99.99
CONCENTRADO PROTEICO	2.4	34.63	7.1	11.6	0.0	44.3	100

Determinaciones por triplicado.

Métodos de acuerdo con el A.O.A.C.1993.

Se observa que tanto el contenido proteico como el de cenizas aumentan su concentración conforme la muestra se va "purificando". El salvado de arroz en su forma nativa presenta alrededor del 50% del total como carbohidratos solubles, el otro 50% restante lo componen: proteína en un 13.86% por debajo del contenido de extracto etéreo que esta en un 17.5%. Lo que indica que si no se desgrasara el contenido de grasa interferiría para la obtención del material proteico. El 19% restante esta compuesto por cenizas, humedad y fibra cruda. El proceso de desgrasado reduce en un 74% el contenido de grasa presente, dejando únicamente un 5% de grasa en el salvado de arroz molido, desgrasado y tamizado. Este tratamiento provoca la concentración del resto de los componentes no grasos (cenizas, fibra, carbohidratos y proteína). Este procedimiento permite concentrar la proteína 1.2 veces refinándonos al valor del salvado nativo.

El concentrado proteico presenta un aumento del contenido de proteínas, cenizas y grasa residual, referente a los obtenidos en la homogeneización, cabe mencionar que el proceso de extracción de las proteínas (solubilización con agua destilada a pH 10, durante 1h a 30°C) "arrastró" también componentes como cenizas y grasa. La eficiencia del proceso se refleja en la eliminación total de la fibra cruda, en la reducción del contenido de humedad y de carbohidratos solubles. El proceso de extracción y secado permitió concentrar la proteína 2.5 veces del contenido inicial.

### 3.1.4 DETERMINACIÓN DEL pH.

El valor de pH que presentan las materias primas en la industria de alimentos es un parámetro que nos indica las condiciones experimentales de obtención de los aislados proteicos, por lo general éste se ajusta a 7.0 previo al secado por lo tanto el caracterizar a los aislados del salvado de arroz dará el índice de buen control de calidad en el producto terminado. El pH reportado para cada muestra de salvado se comparan con tres aislados comerciales de soya (muestras control) y se presentan en la siguiente tabla:

**TABLA N. 15**  
pH de las muestras de salvado y de aislados de soya

SALVADO DESGRASADO Y HOMOGENEIZADO	CONCENTRADO PROTEICO	ARDEX F	PROFAM 981	PROFAM 646
6.45±0.01	7.00±0.01	6.76±0.03	7.12±0.006	6.41±0.03

Resultados promedio de tres determinaciones.

Se observa que solo el PROFAM 981 presenta un pH ligeramente mayor a 7.00, los demás (con excepción del concentrado proteico de salvado) presentan pH's orillados a la zona ácida. Se observa en general que llegando a la zona neutra de pH la igualdad de cargas de los diversos aminoácidos presentes en todas las muestras se mantiene estable. Además de que en el caso del concentrado proteico los procesos de pasteurización y secado no modificaron el sustrato.

### 3.1.5 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO.

Los resultados del contenido microbiológico presente en las tres muestras del salvado de arroz se presentan en la siguiente tabla (16); las determinaciones (de coliformes totales, mesófilos aerobios y hongos y levaduras) y la discusión de resultados se llevaron a cabo de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana (NOM-MX-1994)

TABLA N 16

Análisis microbiológico de las muestras de salvado de arroz

MUESTRAS	MESOFILOS AEROBIOS UFC/g muestra	COLIFORMES TOTALES NMP/g muestra	HONGOS Y LEVADURAS UFC/g muestra
SALVADO NATIVO	$1.2 \times 10^6$	43	Levaduras $43.3 \times 10^5$ No hay presencia de hongos filamentosos
SALVADO DESGRASADO Y HOMOGENEI- ZADO	$5.6 \times 10^5$	36	Levaduras $3.7 \times 10^5$ No hay presencia de hongos filamentosos
CONCENTRADO PROTEICO	$297 \times 10^2$	> 30	No hay presencia de hongos filamentosos ni levaduras
<b>NOM-MX-1994</b>	<b>&lt;100,000</b>	<b>&lt;100</b>	<b>&lt;200</b>

Se observa que el salvado nativo presenta cuentas de mesófilos aerobios y coliformes totales elevadas lo que implica su mal manejo durante el procesamiento de pulido, posiblemente, la muestra de salvado se encontraba en un lugar inadecuado a temperaturas elevadas y/o alta humedad condiciones que propiciaron el desarrollo de estos microorganismos además de que la muestra presenta contenido de paja, impurezas y restos de insectos material que proporciona este elevado contenido de microorganismos; la presencia de levaduras corrobora la alta humedad del ambiente. El proceso de homogeneización y desgrasado eliminó las fracciones de residuos (basura) que provocaban mayor crecimiento microbiano lo que se tradujo en la reducción de las cuentas de mesófilos aerobios aproximadamente en una unidad exponencial y en las levaduras con una ligera disminución, los coliformes totales se reducen también pero no en forma significativa. De acuerdo con la norma se observa que los límites permisibles para las colonias de mesófilos aerobios son de 100,000 UFC/g muestra lo que indica que las muestras de salvado nativo y salvado desgrasado y homogeneizado se encuentran por arriba de este valor, en comparación con el resultado obtenido para el concentrado proteico el cual es 3 unidades exponenciales menor que este valor máximo para harina de arroz. Referente al resultado obtenido para los coliformes totales la norma sólo permite 100 UFC/g muestra lo que coloca a todas las muestras analizadas por debajo de este rango, mostrando la ausencia de contaminación fecal durante el proyecto.

Finalmente, los límites para hongos es de 200 UFC/g muestra y no se reportan valores para levaduras en la harina de arroz; en las muestras de salvado nativo y salvado desgrasado se presentan valores de 3 unidades exponenciales para levaduras, lo que indica malas condiciones de almacenamiento durante el proceso de pulido y transporte (humedad alta). Referente a los hongos confirmamos la ausencia total para todas las muestras estudiadas.

En el concentrado proteico no se presentó crecimiento de hongos y levaduras, el contenido de coliformes totales es menor de 30 UFC/g muestra y los mesófilos aerobios reducen su concentración en 4 unidades exponenciales; esto indica que el proceso de pasteurización llevado a cabo en el sobrenadante y el secado por aspersión permitieron eliminar la mayor cantidad de microorganismos presentes lo que demuestra que los procesos de pasteurización y secado fueron eficientes.

### 3.2 OBTENCION DEL AISLADO PROTEICO DEL SALVADO DE ARROZ.

Para la obtención del aislado proteico del salvado de arroz, se ensayaron diferentes condiciones de solubilización de las proteínas presentes en el mismo, los resultados de concentración de la proteína soluble y las condiciones fisicoquímicas empleadas se analizaron por medio de un análisis estadístico de varianza utilizando el paquete estadístico Statistics Social Program Science SPSS, así mismo los resultados cualitativos se analizaron en los geles de poliacrilamida-SDS, ambos resultados permitieron determinar las condiciones óptimas de extracción.

El análisis electroforético de las proteínas solubilizadas requiere que las muestras estén concentradas, se analizó una muestra sometida a cuatro métodos diferentes de concentración y los concentrados se analizaron electroforéticamente

Los resultados se presentan en la Fig 2, estos reflejan que los cuatro métodos son efectivos ya que no hay diferencia en el perfil electroforético ya que se aprecian el mismo número de bandas y con pesos moleculares de mediano y bajo peso molecular.

La precipitación con TCA dio como resultado bandas más definidas, el fondo del carril es más limpio, el método es fácil y rápido. En cambio, con Amicón y Glicerol se ven las bandas más oscuras y al tratar de identificarlas se dificulta, ya que son muy gruesas y numerosas. Con el Spin Vac también se aprecian bandas bien definidas aunque un poco claras, el problema de éste método es que concentra el disolvente empleado, que en este caso fue el NaCl junto con la muestra, por lo que se tendrían interferencias en

cuanto a la claridad del gel. Tomando en cuenta los reactivos o materiales utilizados y sobre todo el tiempo, se llegó a la decisión de utilizar la metodología de concentración por precipitación de las proteínas utilizando el Acido tricloroacético.

### PERFIL ELECTROFORETICO. SOLUBILIDAD vs pH CUATRO METODOS DE CONCENTRACION

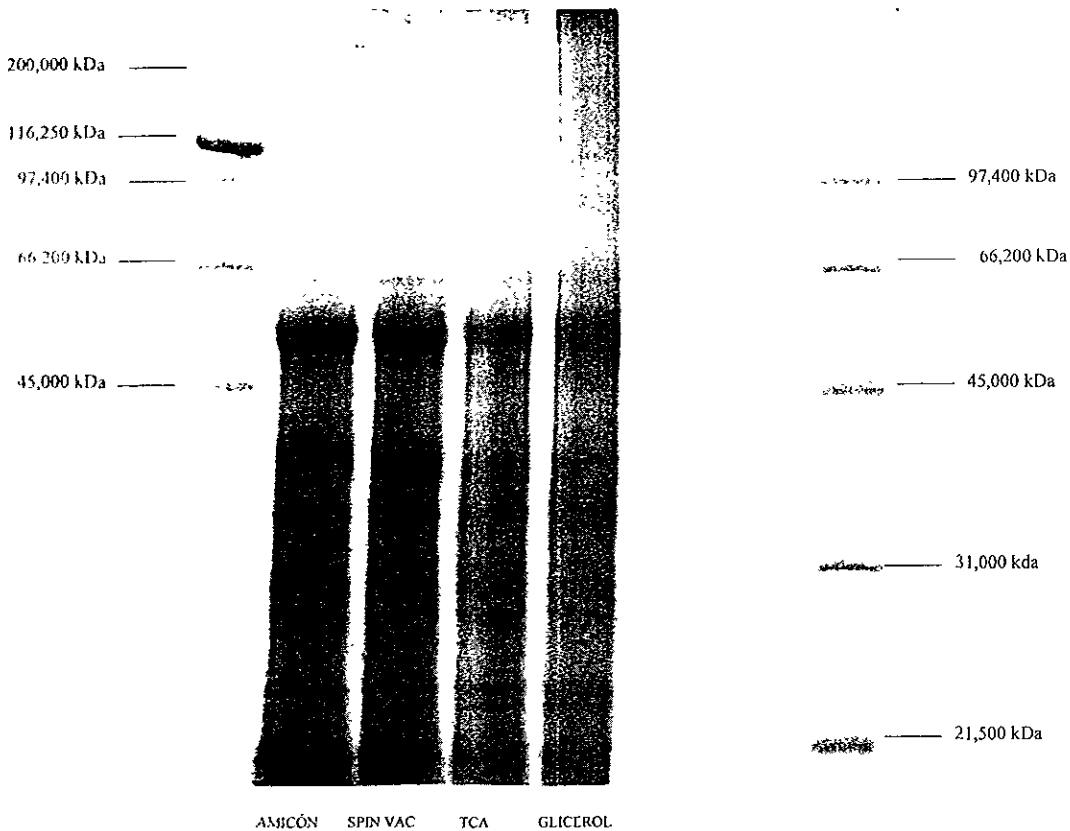


FIG 2  
PERFIL ELECTROFORETICO  
CUATRO MÉTODOS DE CONCENTRACIÓN  
SOLUBILIDAD vs pH

### 3.2 a SOLUBILIDAD DE LAS PROTEÍNAS DEL SALVADO DE ARROZ

En la tabla 17 se presentan los resultados cuantitativos de la extracción de las proteínas del salvado de arroz en función del pH utilizando como primer disolvente agua destilada.

**TABLA N. 17.**

Solubilidad de las proteínas del salvado de arroz en función del pH utilizando como disolvente agua destilada

pH	µg. prot. sol./ mL	g.prot.sol / 100 g harina	% proteína soluble
1.88	3400.99	5.101±0.48	27.76
3.11	3251.05	4.877±0.27	26.53
4.02	3292.42	4.939±0.29	26.87
5.43	3279.66	4.909±0.07	26.77
6.13	4495.43	6.743±0.31	36.69
7.00	6365.10	9.548±0.34	51.95
8.26	6988.88	10.483±1.91	57.04
8.67	11486.71	17.230±1.12	93.74
9.74	11803.21	17.705±0.88	96.33
10.19	12210.14	18.315±1.43	99.65
11.57	13063.49	19.595±0.72	106.61
<b>ANÁLISIS DE VARIANZA</b>			
<b>NIVEL DE VARIANZA PRUEBA DE FISHER.</b>			
**			
<b>PRUEBA DE RANGO MÚLTIPLE DE DUNCAN</b>			
P = 99%		P = 95%	
5,4,3,2		5,4,3,2	
6		6	
8,7		8,7	
11,10,9		11,10,9	
12,11		12	

Disolvente Agua destilada Volumen total = 30.0 mL Temperatura 30°C  
Gramos de harina = 2.0 gramos Concentración de proteína = 18.38 g Proteína / 100 g. harina Determinación de la proteína soluble por el método de Lowry-SDS.

Proteína soluble (%) = g proteína soluble/100 g de harina de salvado.

\*\* Diferencia altamente significativa (p=99%)

Nota Letras diferentes implican diferencias significativas ( p=95% y p=99%)

Los resultados del porcentaje de proteína soluble se analizan en la tabla 17 y el comportamiento del mismo en relación con el pH se puede observar en la Fig. 3.

Ambos nos indican que la solubilidad se mantiene prácticamente sin cambios en el intervalo de pH de 2 a 5.43 después de este valor de pH se incrementa proporcionalmente con el pH, se obtiene un 100% de solubilización en el pH de 11.57.

El análisis estadístico nos indica que de acuerdo con el análisis de varianza Fisher indica que hay *diferencia altamente significativa entre los pH utilizados para la solubilidad de la proteína.*

Para la prueba de Duncan la probabilidad del 95% agrupa como los mayores valores a pH 12, para una probabilidad del 99% el mayor rendimiento de solubilidad es con pH 11 y 12.

Los resultados de la electroforesis de las proteínas solubilizadas se presentan en la Fig. 4 y 5, en el rango de pHs ácidos (1.88 – 7.00) nos indican que para los pHs de 1.88, 3.11 y 4.02 las proteínas presentes son de bajo peso molecular presentándose 3 proteínas en común con los siguientes pesos moleculares 27,000; 36,000 y 38,000 kDa. En los pH 5.43, 6.13 y 7.00 se localizan proteínas de mediano y bajo peso molecular además de las proteínas presentes en cada pH comparten dos proteínas de 29,000 y 80,000 kDa. En general, en estos pH's es en donde se encuentran un gran número de proteínas y están tan juntas que es difícil la interpretación de sus pesos moleculares. Para todo el rango de pH y en las bandas de proteínas con pesos moleculares menores a 20,000 kDa sucede lo mismo, la cantidad y la poca separación de las mismas dificultan su cuantificación. En el rango de pHs básicos (8.26–11.57) se puede observar que el número de bandas es el mismo. En todos los pH's se observan proteínas de 66,200 kDa, dos más concentradas de 50,000 y 55,000 kDa aprox. De menor peso molecular hay otra de 36,000 y tres muy cercanas a los 31,000 kDa. Existen varias proteínas muy juntas que aparecen entre 14,000 y 31,000 kDa. En general las proteínas presentes son de mediano y bajo peso molecular. La claridad de las bandas es mejor en los pH's 8.26, 8.67 y 9.74. En pH 10.19 y 11.57 existe un barrido que puede deberse a una posible degradación de las proteínas por pH's alcalinos o bien a la presencia de moléculas solubles contaminantes resultado del proceso de concentración de las muestras, lo que sugiere que hay que agregar un paso de diálisis de la muestra en el proceso de preparación de las mismas para introducir las al gel.

fig 3  
AGUA DESTILADA

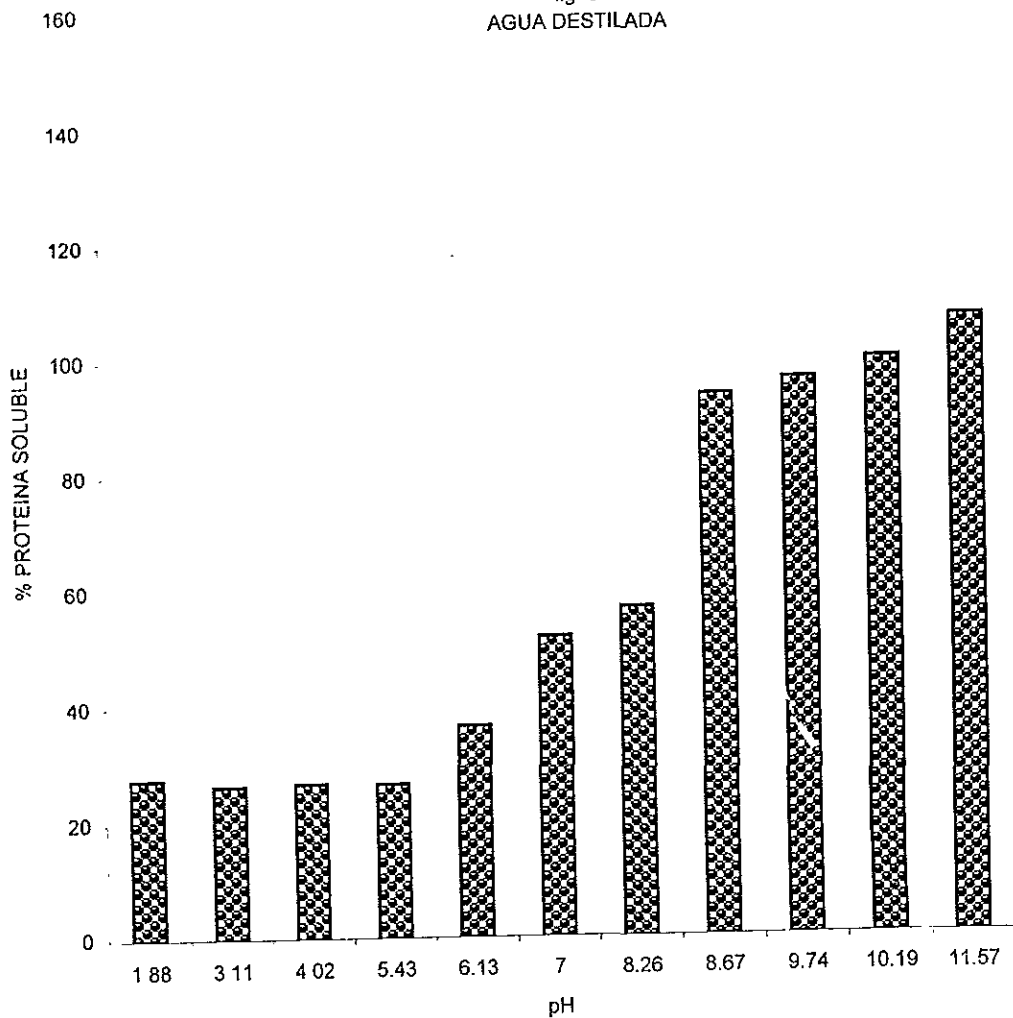


FIG 3  
SOLUBILIDAD vs pH  
SOLVENTE: AGUA DESTILADA  
SUSPENSIÓN AL 1% DE PROTEÍNA Determinación DE PROTEÍNA SOLUBLE POR EL MÉTODO DE LOWRY-SDS.  
% PROTEÍNA SOLUBLE = g de proteína soluble/100 g de muestra  
TABLA No 17



PERFIL ELECTROFORÉTICO. SOLUBILIDAD vs pH  
 AGUA DESTILADA

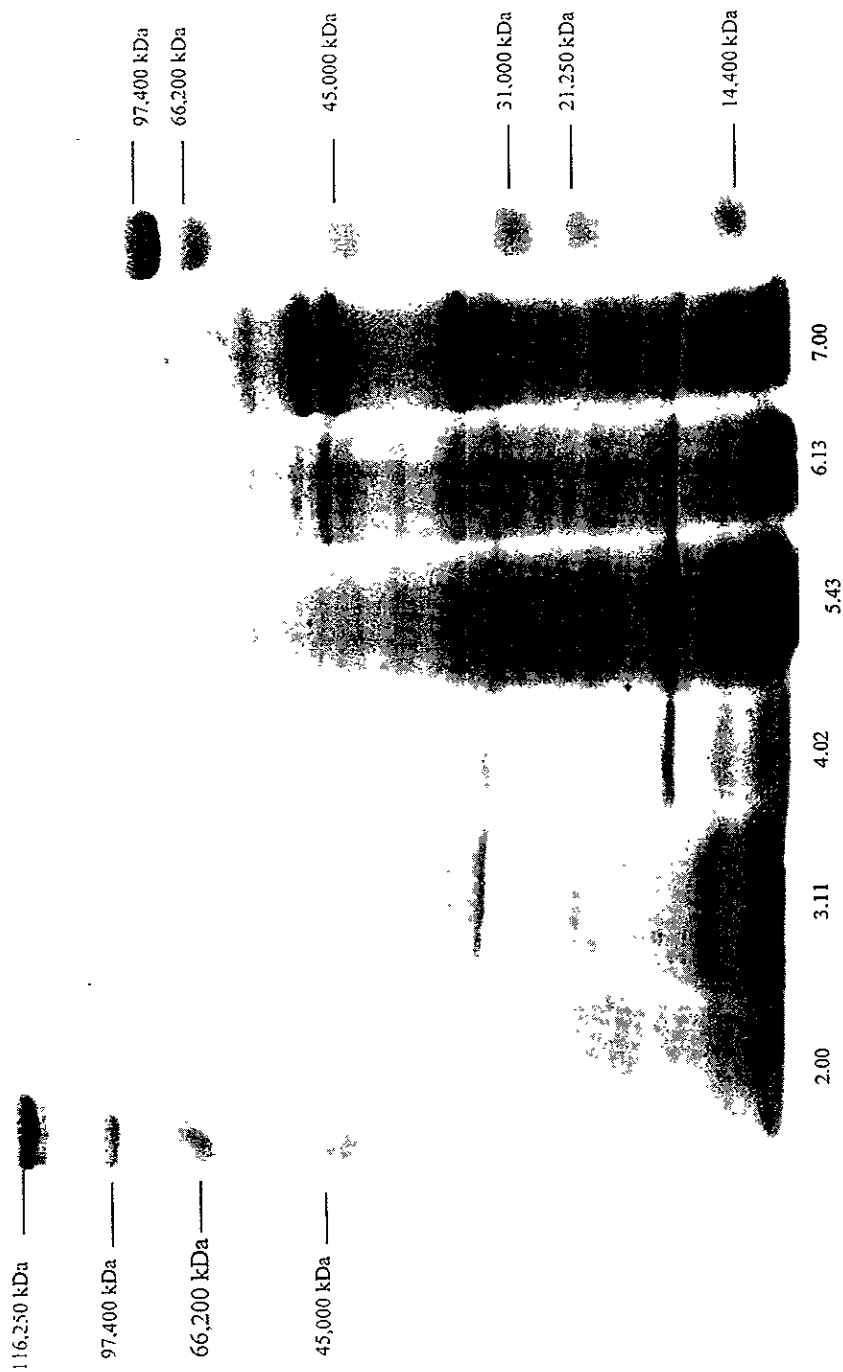
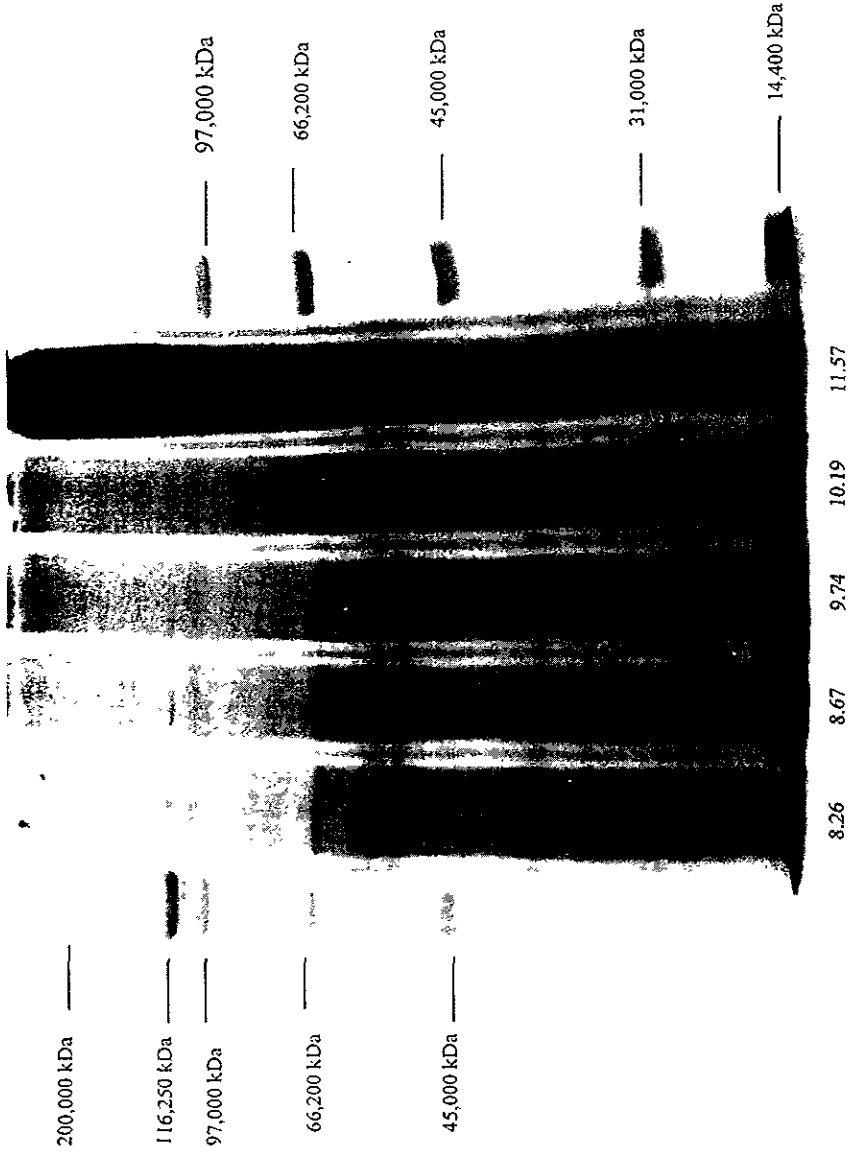


FIG. 4 y 5  
 PERFIL ELECTROFORÉTICO  
 SOLUBILIDAD vs pH  
 SOLVENTE AGUA DESTILADA

PERFIL ELECTROFORÉTICO. SOLUBILIDAD vs pH  
AGUA DESTILADA



En la tabla 18 se presentan los resultados cuantitativos de la extracción de las proteínas del salvado de arroz en función del pH utilizando como segundo disolvente una solución de Cloruro de sodio 0.05 M preparada con agua destilada.

**TABLA N. 18**  
Solubilidad de las proteínas del salvado de arroz en función del pH utilizando como disolvente cloruro de sodio 0.05 M.

pH	µg PROT. SOL / mL	g PROT. SOL. / 100g HARINA	% PROTEINA SOLUBLE
2.12	4845.30	7.268±0.32	39.54
3.12	4854.08	7.281±0.42	39.61
4.12	5020.94	7.530±0.50	40.98
5.07	5116.24	7.740±0.37	41.75
6.11	5393.87	8.091±0.36	44.02
6.94	6177.32	9.266±1.21	50.41
7.91	8448.09	12.672±0.47	68.95
9.08	10966.83	16.450±0.43	89.50
9.90	11953.83	17.931±1.64	97.56
10.47	11412.01	17.118±0.77	93.13
12.38	13383.67	20.072±0.82	109.22

ANÁLISIS DE VARIANZA	
NIVEL DE VARIANZA PRUEBA DE FISHER.	
**	
PRUEBA DE RANGO MÚLTIPLE DE DUNCAN	
P = 99%	P = 95%
2,3,4,5,6	2,3,4,5,6
6,7	7
8	8
9,11	9,11
11,10	11,10
12	12

Disolvente. Agua destilada. Volumen total = 30.0 ml Temperatura 30°C  
Gramos de harina = 2.0 gramos. Concentración de proteína = 18.38 g Proteína / 100 g. harina. Determinación de la proteína soluble por el método de Lowry-SDS.  
Proteína soluble (%) = g proteína soluble/100 g de harina de salvado.  
\*\* Diferencia altamente significativa (p=99%).  
Nota. Letras diferentes implican diferencias significativas ( p=95%y p=99%)

Y en la Fig. 6 observamos que el aumento en la concentración de proteína es directamente proporcional al pH, es decir, la concentración de proteína va aumentando conforme aumenta el pH. En la cuantificación del rendimiento de proteína soluble no hay diferencia significativa al utilizar agua sola o solución salina 0.05 M en ambas curvas en el pH de 9 se tiene más del 90% de solubilidad. El análisis estadístico nos indica que para el disolvente de NaCl 0.05M la prueba de Fisher existe una diferencia altamente significativa entre el valor de pH a utilizar.

Para 95% y 99% de probabilidad en la prueba de Duncan nos indica que el mayor rendimiento de solubilidad se obtiene al utilizar pH 12.0

En la fig. 7 y 8 se muestran los resultados en la electroforesis de las proteínas solubilizadas con este solvente y observamos que en el rango ácido de pHs de 2.12 a 6.94. El peso molecular de las proteínas presentes en éste rango de pH's es de 34,000 kDa Para el pH 2.12 las bandas están un poco borrosas por lo que no se puede saber con exactitud el número y peso molecular de las proteínas presentes. En los pHs de 3.12, 5.07, 6.11, y 6.94 están dos proteínas en común de 33,000 y 36,000 kDa. En los pHs de 4.12, 5.07, 6.11 y 6.94 sobresale una proteína de 17,000 kDa. En los pHs 5.07 y 6.11 existe una de 39,000 kDa, y en los últimos tres pH's se visualizan bastantes bandas de mediano y bajo peso molecular. Para los tres primeros pH's podemos decir que sólo se localizan proteínas de bajo peso molecular y en menor cantidad. En el rango básico de pH de 7.91 a 12.38 se observan proteínas de 66,200; 50,000, 55,000, 38,000; 33,000; 27,000; 23,000 y 21,000 kDa. En todos los pH's entre 14,400 y 19,500 KDa existen más proteínas que se encuentran muy juntas por lo que es difícil su cuantificación.

Para pH 7.91 sobresalen tres proteínas de 40,000; 45,000; 48,000 y 31,000 kDa.

En el pH de 12.38 las bandas no están bien definidas; se encuentran un poco borrosas por lo que es difícil indicar su peso molecular. Para esta curva de solubilidad con 0.05M de NaCl se recomienda también realizar una diálisis previa a la corrida de la muestra.

El promedio de las proteínas están en un peso molecular entre mediano y bajo.

Para 95% y 99% de probabilidad en la prueba de Duncan nos indica que el mayor rendimiento de solubilidad se obtiene al utilizar pH 12.0

En la fig. 7 y 8 se muestran los resultados en la electroforesis de las proteínas solubilizadas con este solvente y observamos que en el rango ácido de pHs de 2.12 a 6.94. El peso molecular de las proteínas presentes en éste rango de pH's es de 34,000 kDa. Para el pH 2.12 las bandas están un poco borrosas por lo que no se puede saber con exactitud el número y peso molecular de las proteínas presentes. En los pHs de 3.12, 5.07, 6.11, y 6.94 están dos proteínas en común de 33,000 y 36,000 kDa. En los pHs de 4.12, 5.07, 6.11 y 6.94 sobresale una proteína de 17,000 kDa. En los pHs 5.07 y 6.11 existe una de 39,000 kDa, y en los últimos tres pH's se visualizan bastantes bandas de mediano y bajo peso molecular. Para los tres primeros pH's podemos decir que sólo se localizan proteínas de bajo peso molecular y en menor cantidad. En el rango básico de pH de 7.91 a 12.38 se observan proteínas de 66,200; 50,000; 55,000; 38,000, 33,000; 27,000; 23,000 y 21,000 kDa. En todos los pH's entre 14,400 y 19,500 kDa existen más proteínas que se encuentran muy juntas por lo que es difícil su cuantificación.

*Para pH 7.91 sobresalen tres proteínas de 40,000; 45,000; 48,000 y 31,000 kDa.*

En el pH de 12.38 las bandas no están bien definidas; se encuentran un poco borrosas por lo que es difícil indicar su peso molecular. Para esta curva de solubilidad con 0.05M de NaCl se recomienda también realizar una diálisis previa a la corrida de la muestra.

El promedio de las proteínas están en un peso molecular entre mediano y bajo.

fig. 6  
0.05M de NaCl

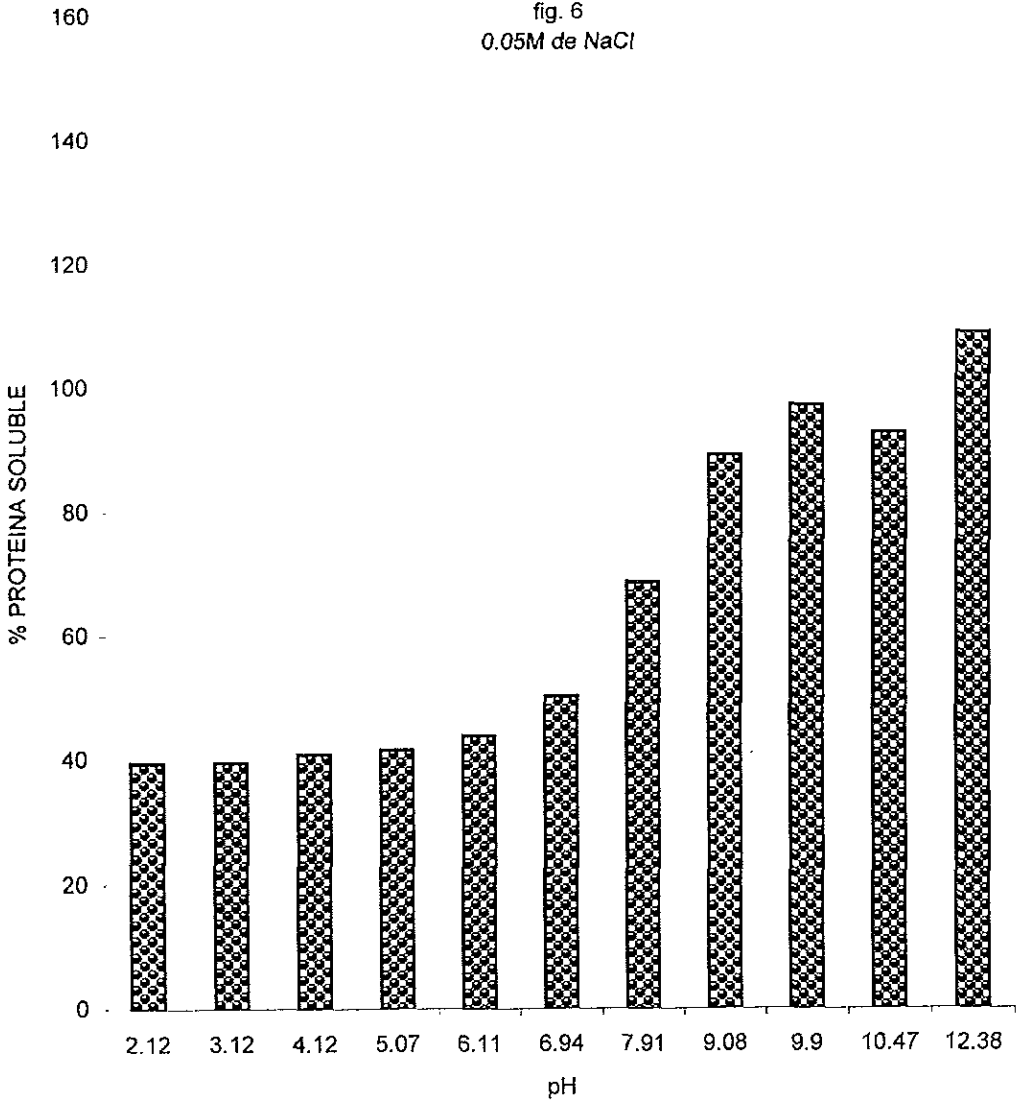
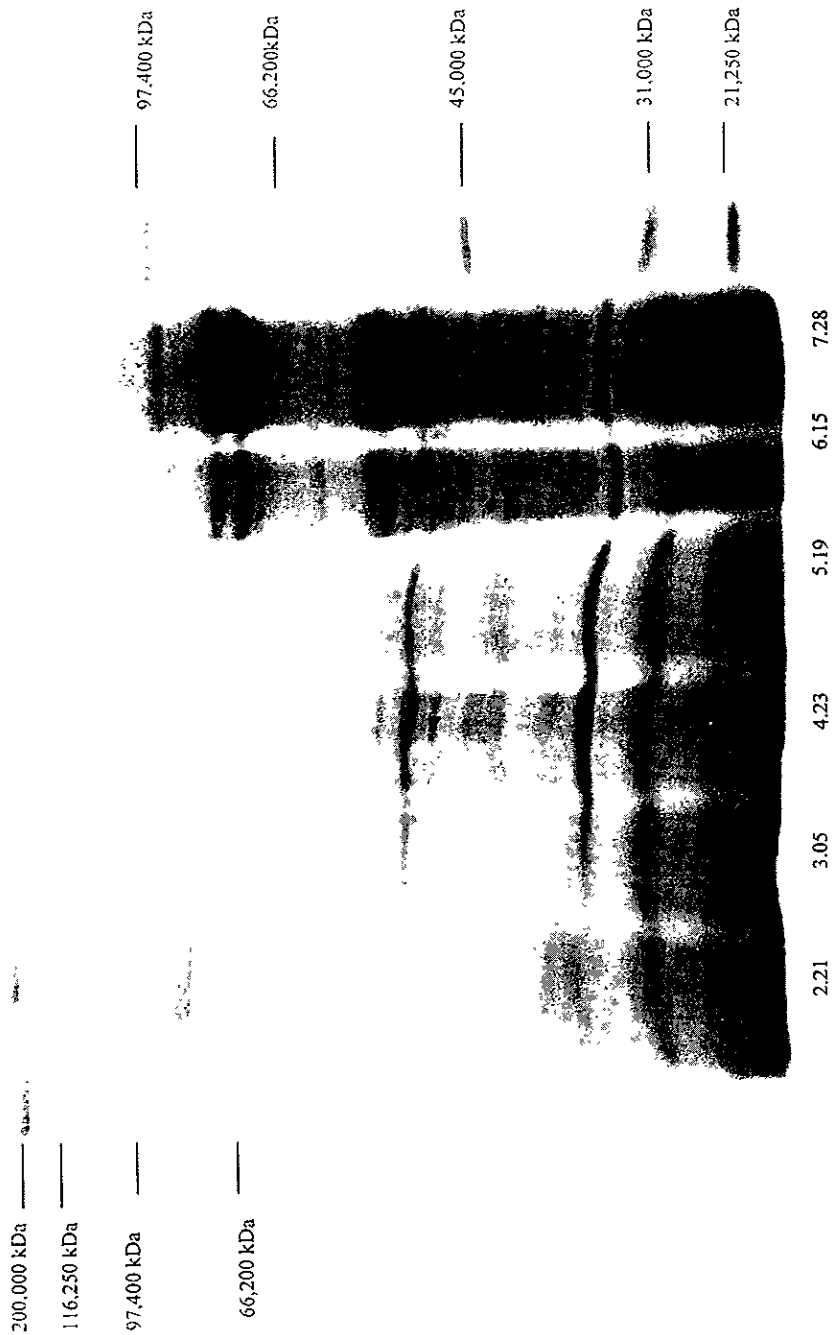


FIG 6  
SOLUBILIDAD vs pH  
SOLVENTE NaCl 0.05M  
SUSPENSIÓN AL 1% DE PROTEÍNA Determinación DE PROTEÍNA SOLUBLE POR EL MÉTODO DE LOWRY-SDS  
% PROTEÍNA SOLUBLE = g de proteína soluble/100 g de muestra  
TABLA No. 18

PERFIL ELECTROFORÉTICO. SOLUBILIDAD vs pH  
0.05M NaCl



PERFIL ELECTROFORÉTICO. SOLUBILIDAD vs pH  
0.05M NaCl

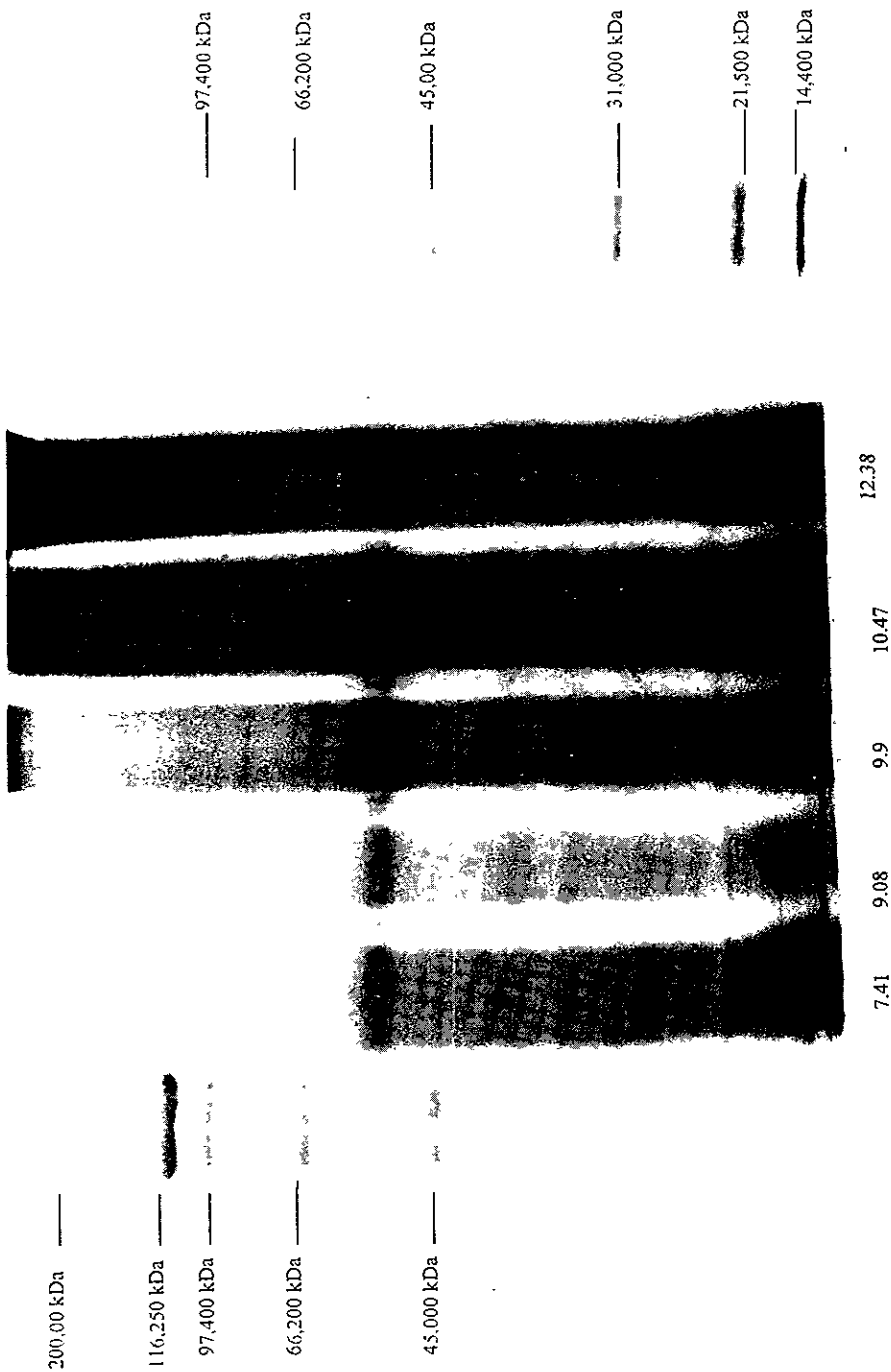


FIG. 7 y 8  
PERFIL ELECTROFORÉTICO  
SOLUBILIDAD vs pH  
SOLVENTE: NaCl 0.05M



En la tabla 19 se presentan los resultados cuantitativos de la extracción de las proteínas del salvado de arroz en función del pH utilizando como tercer disolvente una solución de cloruro de sodio 0.1 M preparada con agua destilada.

**TABLA N.19**

Solubilidad de las proteínas del salvado de arroz en función del pH utilizando como disolvente cloruro de sodio 0.1M

pH	µg PROT. SOL / mL	g PROT. SOL / 100g HARINA	% PROTEÍNA SOLUBLE
2.00	4512.95	6.769±0.49	36.83
3.06	5777.89	8.667±0.22	47.15
4.10	5655.90	8.484±0.18	46.16
5.15	5632.76	8.449±0.40	45.97
6.32	7356.33	11.034±0.60	60.04
7.15	8459.25	12.689±1.40	69.04
7.86	11015.97	16.524±2.61	89.90
8.74	9481.99	14.272±0.63	77.38
9.77	12667.98	19.002±0.83	103.38
10.64	13031.40	19.547±0.87	106.35
12.26	18911.08	28.367±0.80	154.33
<b>ANÁLISIS DE VARIANZA</b>			
<b>NIVEL DE VARIANZA PRUEBA DE FISHER</b>			
**			
<b>PRUEBA DE RANGO MÚLTIPLE DE DUNCAN</b>			
P = 99%		P = 95%	
2		2	
5,4,3		5,4,3	
6		6	
7,9		7	
8		8	
10,11		9	
12		10,11 12	

Disolvente: Agua destilada. Volumen total = 30.0 ml Temperatura 30°C

Gramos de harina = 2.0 gramos. Concentración de proteína = 18.38 g Proteína / 100 g. Harina Determinación de la proteína soluble por el método de Lowry-SDS.

Proteína soluble (%) = g proteína soluble/100 g de harina de salvado.

\*\* Diferencia altamente significativa (p=99%).

Nota: Letras diferentes implican diferencias significativas (p=95% y p=99%)

En la tabla anterior y en la Fig. 9 se observa que en los cuatro primeros valores de pH el por ciento de proteína es muy variado, ya que aumenta y disminuye; aunque no de manera significativa. Se puede decir que el pH, a partir de 6.32, es proporcional la concentración de proteína conforme aumenta el pH, llegando a su total solubilización.

Podemos decir, en general que el disolvente utilizado registra un buen rendimiento a pH's alcalinos ya que en pH de 12.26 se llega a una total solubilización

El análisis estadístico del disolvente de NaCl 0.1M: Nos indica lo siguiente Fisher indica que hay diferencia altamente significativa entre los pH's utilizados para la solubilizar la proteína.

La prueba de rangos múltiples de Duncan indican que para una probabilidad del 95% como del 99% el pH con el que el rendimiento es mayor es a pH 12.0

En las Fig. 10 y 11 se presenta el perfil electroforético de las proteínas solubilizadas con este solvente los resultados en el rango de pH's ácidos (2.00–7.15). Existen proteínas de bajo peso molecular en los tres primeros pH's, además de que en el pH de 2.00 sólo se logra ver una proteína de 14,400 kDa, la cual aparece en todo los pHs. En los pHs de 3.06, 4.10, 5.15, 6.32, y 7.15 aparece una proteína de 31,000 kDa. Y en los pHs de 3.06, 5.15, 6.32 y 7.15 existe una de 33,000 kDa. En los pHs de 4.10 a 7.15 hay una de 17,000. Así en los pHs de 5.15, 6.32 y 7.15 tenemos proteínas de mediano y bajo peso molecular de 19,000, y varias que se encuentran muy juntas por lo que es difícil su interpretación.

En los pHs de 6.32 y 7.15 sobresalen tres proteínas de 45,000; 50,000 y 55,000 kDa. En la electroforesis de estas muestras se presentó interferencia por la molaridad de la sal sobre todo en los pH's ácidos por lo que se sugiere una previa diálisis para tener una mejor resolución de las bandas. En el rango básico pH de 7.86 a 12.26 las proteínas presentes a lo largo de todo el rango de pH son de: 57,000; 55,000; 40,000; 35,000 y 24,000 kDa. También hay otras de menor peso molecular que están por debajo de los 14,000 kDa y debido a que son varias y se encuentran muy juntas es difícil dilucidar su peso molecular. Para los cuatro primeros pH's las proteínas que presentes son de 18,000 y 19,000 kDa. En este caso, a pH 10.64 empieza a notarse un barrido que a pH 12.26 es completamente notorio; por lo que se sugiere al igual que en las otras curvas de solubilidad una diálisis a la muestra previa a su corrimiento para así evitar este tipo de interferencias que impiden calcular el peso molecular de las proteínas presentes. Para 0.1M NaCl y con este rango de pH's las proteínas presentes son de mediano y bajo peso molecular.

fig. 9  
0.1M de NaCl

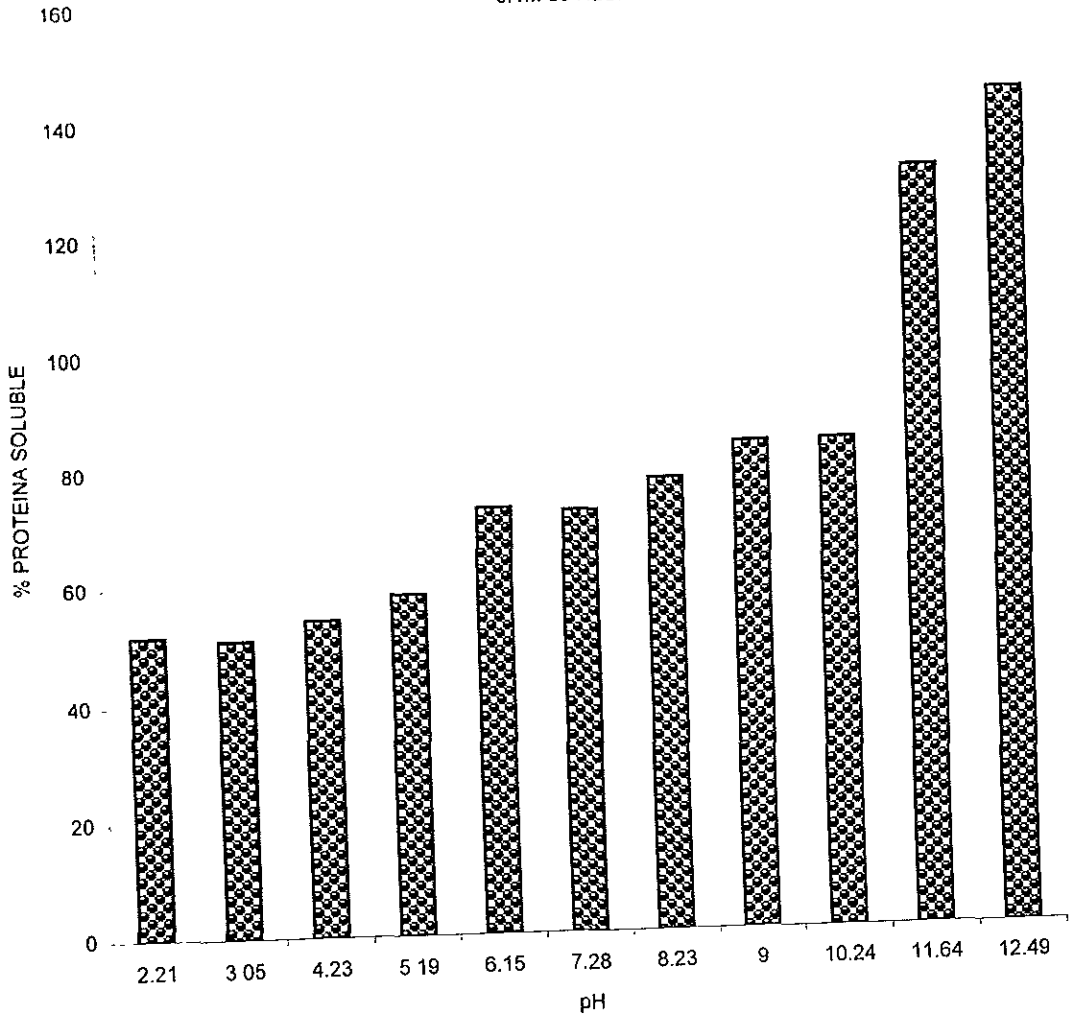
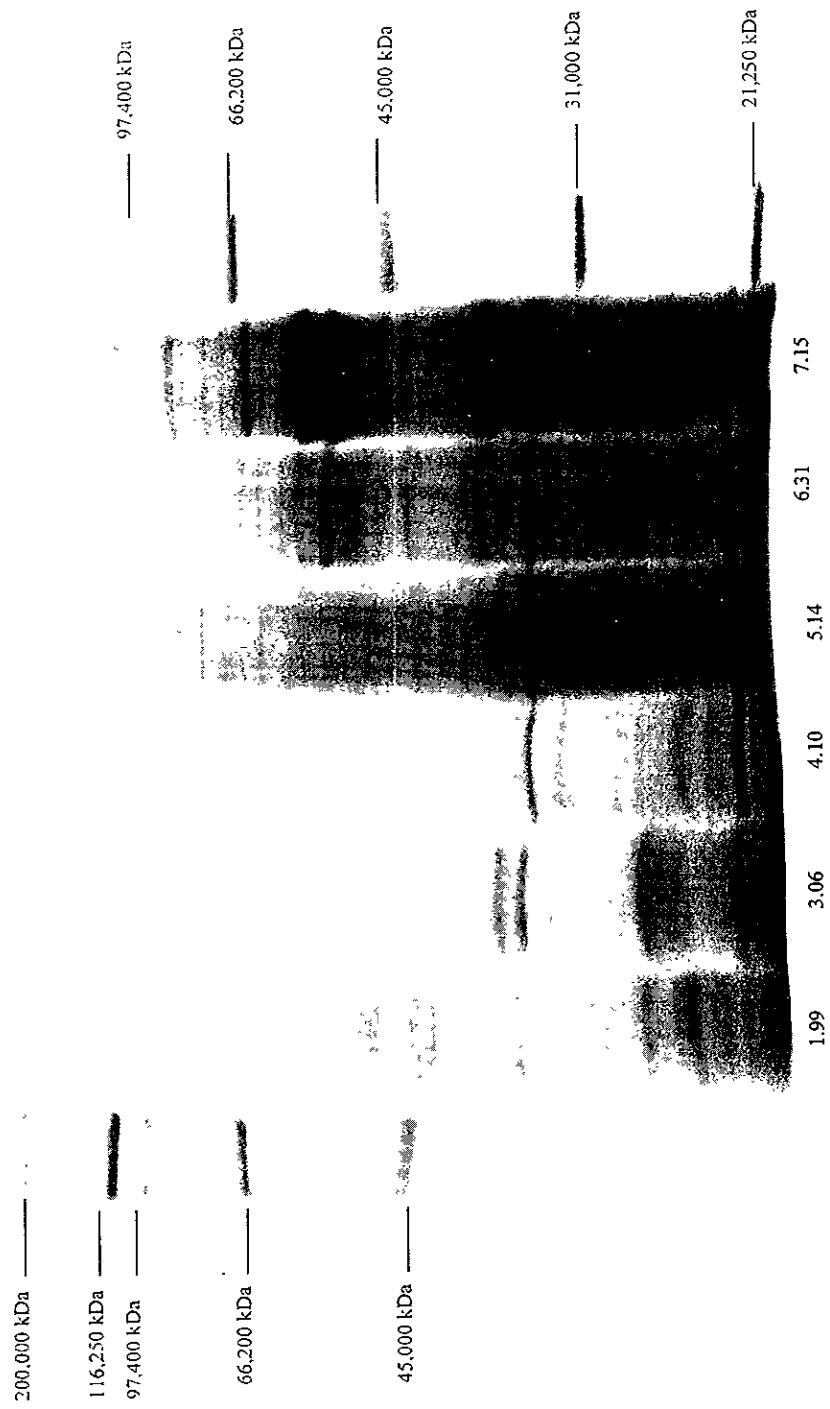


FIG 9  
SOLUBILIDAD vs pH  
SOLVENTE: NaCl 0.1M  
SUSPENSIÓN AL 1% DE PROTEÍNA Determinación DE PROTEÍNA SOLUBLE POR EL METODO DE LOWRY-SDS  
% PROTEÍNA SOLUBLE = g de proteína soluble/100 g de muestra  
TABLA No 19

PERFIL ELECTROFORÉTICO. SOLUBILIDAD vs pH  
0.1M NaCl



PERFIL ELECTROFORÉTICO. SOLUBILIDAD vs pH  
0.1M NaCl

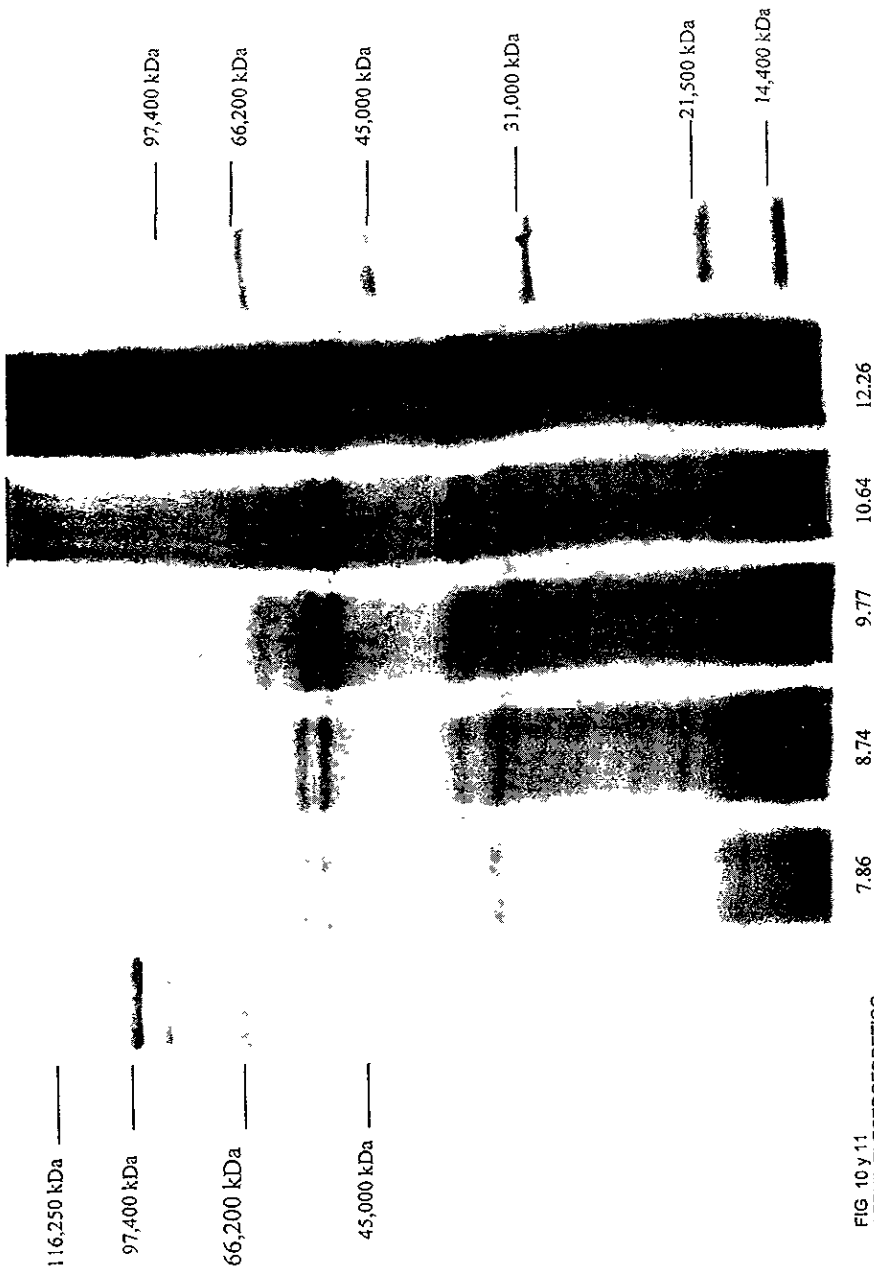


FIG 10 y 11.  
PERFIL ELECTROFORÉTICO  
SOLUBILIDAD vs pH  
SOLVENTE: NaCl 0.1M

En la tabla 20 se presentan los resultados cuantitativos de la extracción de las proteínas del salvado de arroz en función del pH utilizando como segundo disolvente una solución de cloruro de sodio 0.5M preparada con agua destilada.

**TABLA N.20**  
Solubilidad de las proteínas del salvado de arroz en función del pH utilizando como disolvente cloruro de sodio 0.5M.

pH	µg PROT. SOL./ mL	g PROT.SOL. / 100 g HARINA	% PROTEINA SOLUBLE
2.21	6339.69	9.509±0.48	51.74
3.05	6254.46	9.382±0.16	51.04
4.23	6644.84	9.967±0.20	54.23
5.19	7162.16	10.743±0.43	58.45
6.15	8962.77	13.444±0.69	73.15
7.28	8872.90	13.309±0.54	72.41
8.23	9524.55	14.286±0.58	77.73
9.00	10264.88	15.397±1.40	83.77
10.24	10294.52	15.442±0.92	84.01
11.64	15982.87	23.974±2.72	130.44
12.49	17603.12	26.405±1.97	143.66

ANÁLISIS DE VARIANZA	
NIVEL DE VARIANZA PRUEBA DE FISHER	
**	
PRUEBA DE RANGO MULTIPLE DE DUNCAN	
P = 99%	P = 95%
3,2,4,5	3,2,4,5
7,6,8	7,6,8
8,9,10	8,9,10
11	11
12	12

Disolvente Agua destilada Volumen total = 30.0 ml Temperatura 30°C  
Gramos de harina = 2.0 gramos Concentración de proteína = 18.38 g. Proteína / 100 g. harina Determinación de la proteína soluble por el método de Lowry-SDS.

Proteína soluble (%) = g proteína soluble/100 g de harina de salvado.

\*\* Diferencia altamente significativa (p=99%).

Nota. Letras diferentes implican diferencias significativas (p=95% y p=99%)

Y en la Fig.12. Los resultados indican que en los dos primeros valores de pH el por ciento de proteína es casi constante, posteriormente la concentración de proteína aumenta conforme aumenta el valor de pH. Existe un aumento considerable en la concentración de proteína del pH 10.24 al 12.49, en donde ésta llega a una completa solubilidad

El análisis estadístico del disolvente NaCl 0.5M: También en este caso Fisher señala diferencia altamente significativa entre los valores de pH empleados para la solubilidad de la proteína Duncan en su prueba de rangos múltiples indica que para una probabilidad del 95 y 99% el pH en el que se presenta un mejor rendimiento es en 12.0

Es en esta curva en donde se tiene la máxima solubilidad por lo que se podría pensar que es la ideal para la extracción de la proteína, pero también se debe tomar en cuenta el análisis electroforético (ver fig. 13 y 14)

El cual nos indica lo siguiente en el rango de pH's ácidos fue difícil lograr ver algunas bandas ya que por la alta concentración de sal se tuvieron interferencias en el desarrollo de la electroforesis, además de que no se tienen bandas de proteínas.

Es en el pH de 5.19 a 7.28 en donde se logran identificar casi el mismo número de bandas, de mediano y bajo peso molecular, en esta corrida electroforética se utilizó una concentración alta de proteína para lograr visualizar las bandas que se observan de otro modo no se hubieran podido distinguir. En el rango básico de pH de 8.23 a 12.49, podemos ver el mismo número de bandas, aunque en el primero es más notona una proteína de 65,000 kDa. También se identifican bandas con un peso molecular de 50,000 y 55,000 kDa, y una serie de bandas en el rango de 31,000 a 45,000 kDa, alrededor de los 22,000 kDa hacia abajo se aprecian bastantes proteínas hasta los 14,400 kDa. En el pH de 11.64 se logran ver las mismas proteínas que en los tres primeros pH's pero es difícil su interpretación ya que el barrido empieza a ser marcado y las bandas no son muy claras. En cuanto a pH 12.49 el barrido es tan marcado que las bandas no pueden identificarse en cuanto a su peso molecular.

Es importante señalar que a lo largo de todo el rango de pH básico y en todos los carriles está siempre presente un barrido, el cual se atribuye a la elevada concentración de NaCl utilizado como disolvente, por lo que se recomienda como en todos los casos realizarle una diálisis a la muestra antes de la corrida.

fig. 12  
0.5M de NaCl

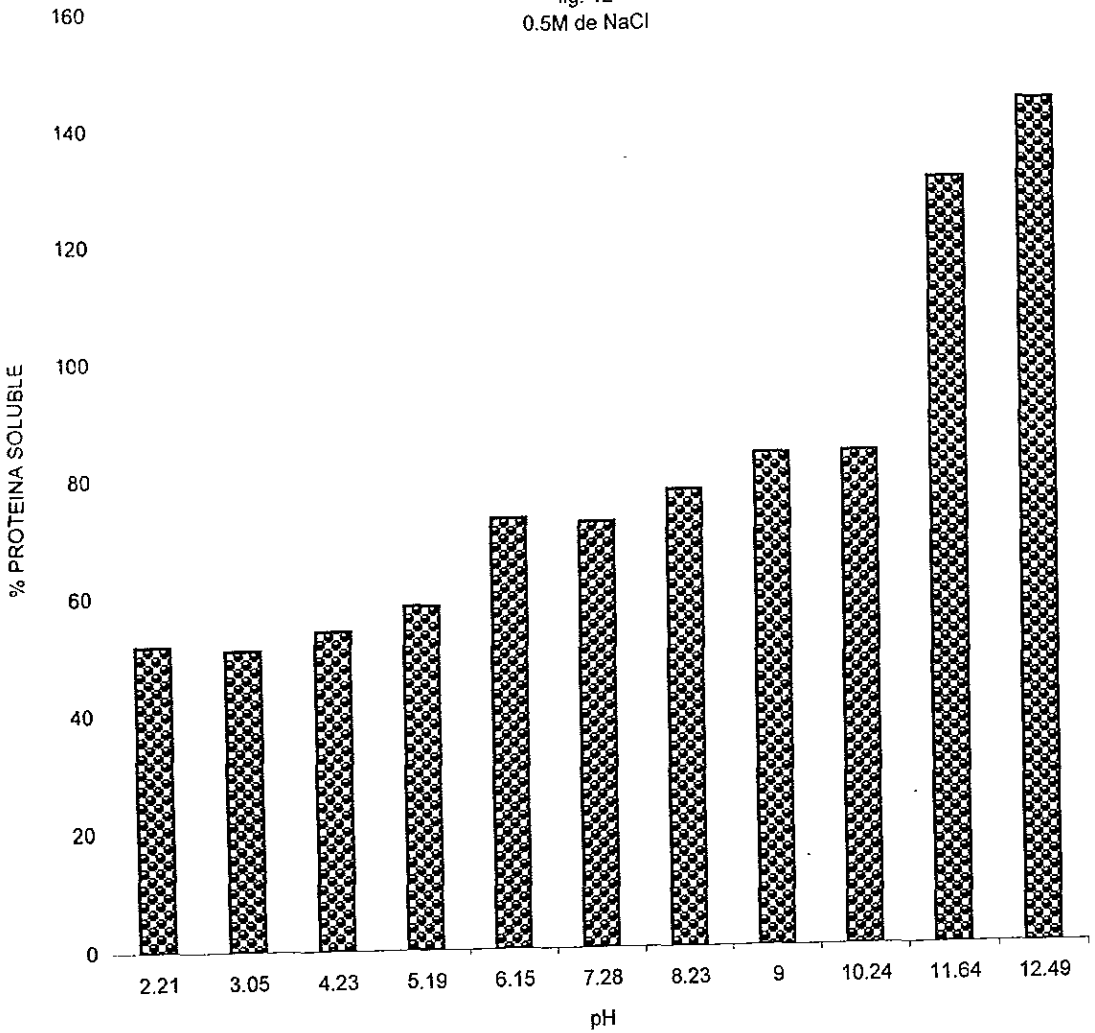
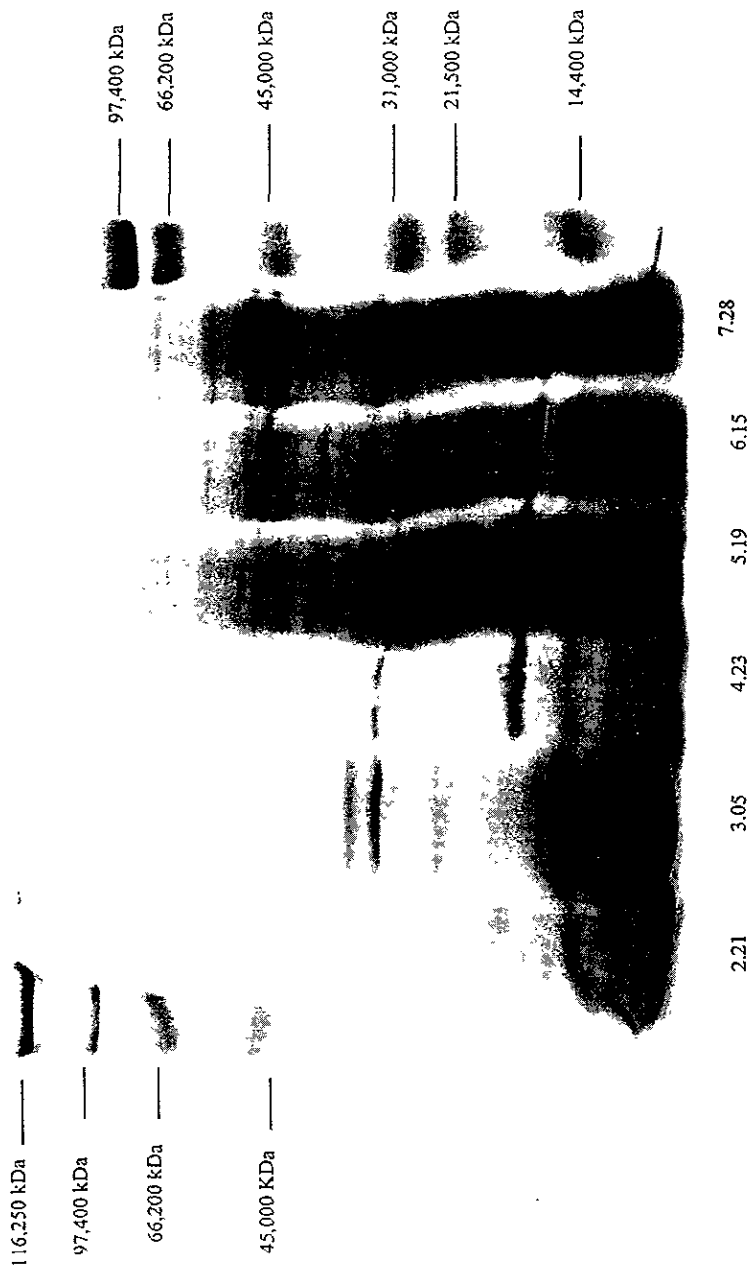


FIG 12  
SOLUBILIDAD vs pH  
SOLVENTE NaCl 0.5M  
SUSPENSIÓN AL 1% DE PROTEÍNA. Determinación DE PROTEÍNA SOLUBLE POR EL MÉTODO DE LOWRY-SDS.  
% PROTEÍNA SOLUBLE = g de proteína soluble/100 g de muestra  
TABLA No 20



PERFIL ELECTROFORÉTICO. SOLUBILIDAD vs pH  
0.5M NaCl



PERFIL ELECTROFORÉTICO. SOLUBILIDAD vs pH  
0.5M NaCl

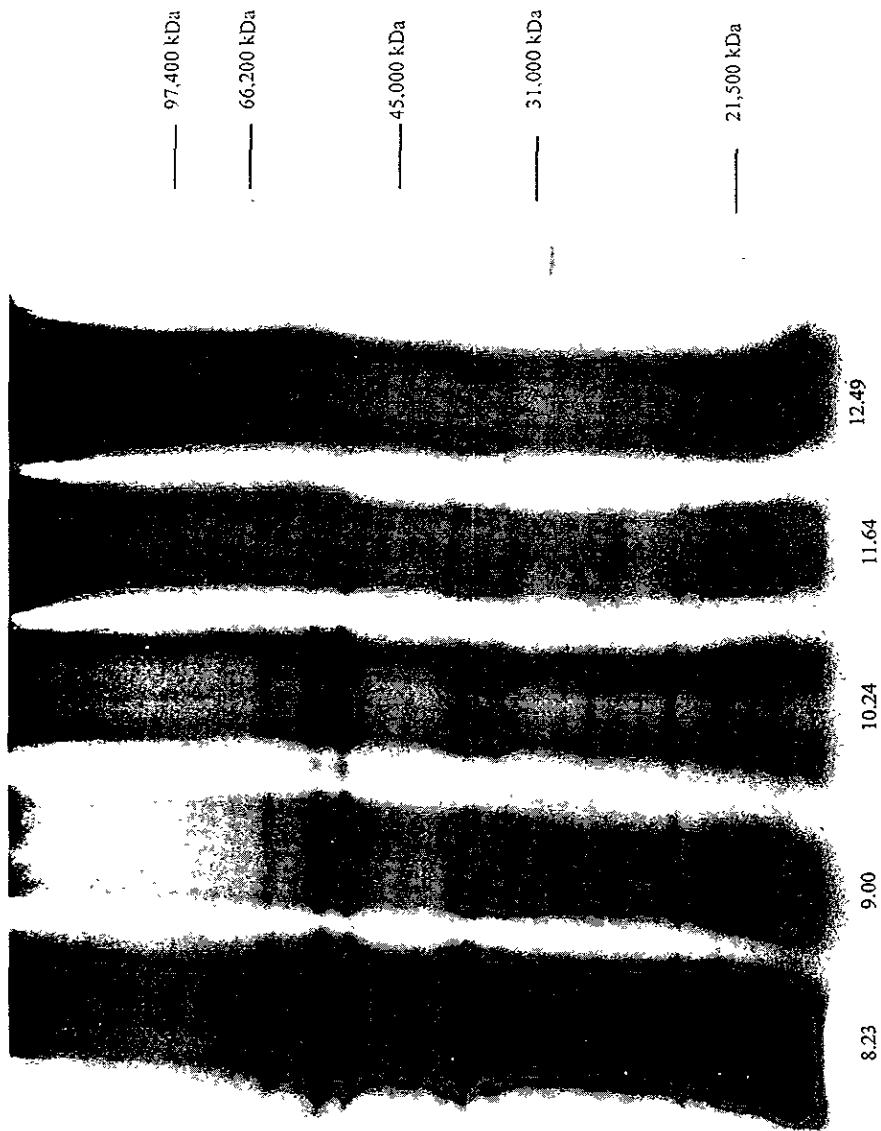


FIG. 13 y 14  
PERFIL ELECTROFORÉTICO  
SOLUBILIDAD vs pH  
SOLVENTE: NaCl 0.5 M

De los resultados obtenidos en las cuatro curvas de solubilidad contra pH se resumen las siguientes observaciones:

En todas las tablas en los pH de 11 y 12 el por ciento de proteína fue mayor al 100%, lo cual es incorrecto.

Los valores sobrestimados pueden deberse a:

- 1) La cantidad de harina de salvado pesada para la solubilidad fue más de la indicada ya que se utilizó una balanza granataria en donde el margen de error es mayor que en una analítica.
- 2) El por ciento de proteína soluble fue medido por el método de Lowry; y éste sobrestimó la concentración de aminoácidos aromáticos. Lo que lleva a pensar que bajo las condiciones empleadas se presentó una "hidrólisis" alcalina o una descarboxilación de las moléculas proteicas dando como resultado una desnaturalización de las mismas ya que en esos pH's es en donde se sobrepasa el 100%, y por lo tanto hay más anillos aromáticos disponibles para que el reactivo cobre-folin cicoolteau reaccione intensificando la respuesta.

De las curvas de solubilidad en conjunto Fig. 15 se observa que en los cinco primeros pH's la concentración de proteína siempre es mayor con 0.5M NaCl, después 0.1M, 0.05M y por último agua destilada, aunque la diferencia entre estos no es muy significativa.

Para los pHs del 6 al 8 el agua destilada presenta dos puntos, uno en donde se cruza con 0.05M y otro con 0.1M NaCl. En el rango de pH de 8 a 10 todos los puntos de los cuatro disolventes se cruzan por lo tanto, no hay diferencia significativa en la concentración de proteína soluble. Para el pH de 11.0 los que siguen una misma tendencia son agua destilada, 0.05M y 0.1M NaCl, sin embargo 0.5M NaCl presenta un aumento importante en la concentración de proteína soluble en comparación con los demás disolventes. Por último en el pH 12.0 con agua destilada y 0.05M NaCl la concentración de proteína soluble es muy cercana, sus puntos llegan casi a tocarse; en cambio 0.1M NaCl presenta un aumento importante por lo que llega ser el disolvente con la mayor concentración de proteína soluble, quedando 0.5M NaCl un poco más abajo. En general, la curva nos indica que los cuatro diferentes disolventes tienen tendencias muy similares, lo que llevo a suponer que con 0.1M NaCl tendríamos la mayor solubilidad de proteína; por lo que fue necesario realizar un análisis estadístico (Tabla 21) y con base en los resultados seleccionar las condiciones ideales.

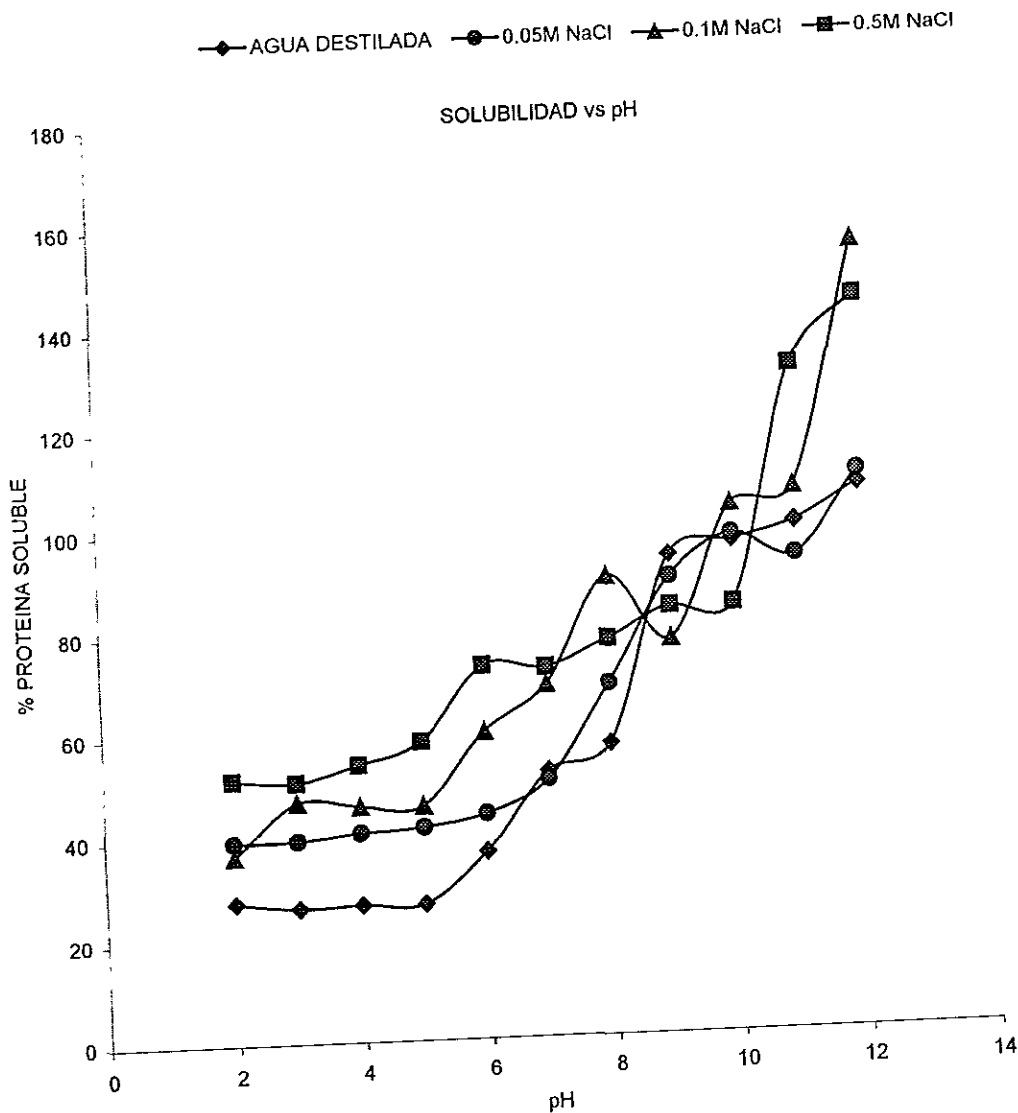


FIG 15  
 SOLUBILIDAD vs pH  
 COMPARACIÓN DE LOS CUATRO DISOLVENTES  
 SUSPENSIÓN AL 1% DE PROTEÍNA. Determinación DE PROTEÍNA SOLUBLE POR EL MÉTODO DE LOWRY-SDS.  
 % PROTEÍNA SOLUBLE = g de proteína soluble/100 g de muestra  
 TABLA No 20

**TABLA N. 21**

Análisis estadístico de curvas de solubilidad  
pH vs disolvente

pH	TRATAMIENTOS		g. PROTEÍNA SOLUBLE/ 100 g. HARINA	ESTADISTICO ANOVA	
	DISOLVENTE				
8	AGUA DEST.		6988.88	Fisher**	
	0.05M NaCl		8448.09	Duncan	
	0.1M NaCl		11015.97	$\alpha 0.01$	$\alpha 0.05$
	0.5M NaCl		9524.56	AB BD CD	A BD C
9	AGUA DEST.		11486.71	Fisher**	
	0.05M NaCl		10966.83	Duncan	
	0.1M NaCl		9481.99	$\alpha 0.01$	$\alpha 0.05$
	0.5M NaCl		10264.89	CD BD AB	C BD AB
10	AGUA DEST.		11803.21	Fisher**	
	0.05M NaCl		11953.83	Duncan	
	0.1M NaCl		12667.98	$\alpha 0.01$	$\alpha 0.05$
	0.5M NaCl		10294.52	D ABC	D ABC
11	AGUA DEST.		12210.14	Fisher**	
	0.05M NaCl		11412.00	Duncan	
	0.1M NaCl		13031.40	$\alpha 0.01$	$\alpha 0.05$
	0.5M NaCl		15982.87	ABC D	AB AC D
12	AGUA DEST.		13063.49	Fisher**	
	0.05M NaCl		13383.67	Duncan	
	0.1M NaCl		18911.08	$\alpha 0.01$	$\alpha 0.05$
	0.5M NaCl		17603.12	AB CD	AB C D
Fisher** $\alpha 0.01$ A BC D E	Fisher* $\alpha 0.05$ A B C D E	A. AGUA DESTILADA B. 0.05M NaCl C. 0.1M NaCl D. 0.5M NaCl			

ESTADISTICO pH vs. CUATRO DISOLVENTES.

Los rendimientos de proteína soluble son globales por disolvente.

Fisher= Análisis de varianza prueba de comparación entre medias.

Duncan= Prueba de rango múltiple, compara las medias entre si y las agrupa.

El análisis estadístico global nos indica lo siguiente:

La diferencia entre pHs (8 a 12) es altamente significativa, y la diferencia entre solventes es significativa, lo que le confiere más peso a la variable pH que a la variable solvente, sin embargo la interacción entre ambas variables es altamente significativa.

Es decir, la concentración de proteína (rendimiento de la extracción) depende tanto del pH como del tipo de disolvente utilizado.

Analizando cada pH se observa lo siguiente: Para el pH 8.0 la prueba de Fisher indica que hay diferencia altamente significativa entre este y el tipo de disolvente utilizado. Y Duncan agrupa como mejor disolvente al NaCl en ambas molaridades 0.1M y 0.5M con una exigencia del 99%. Con una exigencia del 95% el mejor es 0.1M NaCl.

En pH 9.0 Fisher señala que hay diferencia altamente significativa entre los disolventes y la prueba de rango múltiple de Duncan indica como mejor disolvente tanto para una probabilidad del 99% como del 95% al agua destilada y al NaCl 0.05M.

En el pH 10.0 también para Fisher existe una diferencia altamente significativa entre el tipo de disolvente utilizado. Con la prueba de Duncan el mayor rendimiento se presenta utilizando ya sea agua destilada, 0.05M ó 0.1M NaCl con probabilidad del 99 y 95%.

En el caso del pH 11.0 también hay diferencia altamente significativa en el tipo de disolvente que se utilizó. La prueba de Duncan propone 0.5M NaCl para un mayor rendimiento con probabilidad del 99% y 95%.

Con pH 12.0 la diferencia en el tipo de disolvente que se utilizó es altamente significativa. Duncan agrupa con una P=99% con mayor rendimiento a 0.1M y 0.5M NaCl, mientras que para una P=95% sólo con 0.5M NaCl.

La elección del disolvente empleado es importante porque si implica lo mismo utilizar agua que 0.1M NaCl, lo que importa es bajar costos de extracción por lo tanto se decidió utilizar el primero. Y en cuanto a la elección del proceso de acuerdo a los resultados de la electroforesis y como se puede observar que no hay un patrón de bandeo uniforme, sino que cambia singularmente con respecto al pH, esto nos indica que se tienen proteínas de diferente naturaleza bioquímica, lo cual se refleja en la presencia o ausencia

de las mismas dependiendo de las condiciones de solubilización. Por lo tanto la decisión de pH y solvente se fundamenta en los rendimientos.

### 3.2 b AJUSTE DE CONDICIONES PARA LA EXTRACCIÓN DE LAS PROTEÍNAS

Con base en las conclusiones del tratamiento estadístico y los perfiles electroforéticos se decidieron explorar las variables tiempo y relación sustrato/disolvente fijándose las siguientes condiciones experimentales:

Temperatura a  $30^{\circ}\pm 3^{\circ}\text{C}$

pH =10

Disolvente  $\text{H}_2\text{O}$

Tiempos 20, 40 y 60 min

Relación de harina-solvente 1/15, 1/30 y 1/45.

Determinaciones por triplicado.

Los datos obtenidos de proteína soluble (Lowry-SDS) para cada experimento se sometieron a un análisis estadístico (SPSS) y posteriormente las medias se agruparon mediante la prueba de Duncan para observar si existía diferencia significativa entre sí. (TABLA N.22)

El análisis de Fisher fue utilizado para encontrar diferencias entre las medias de cada tratamiento analizado, nos permite determinar si los valores obtenidos son diferentes unos de otros con niveles de aceptación del 99 y 95%. La prueba de Duncan agrupo las 3 relaciones harina-solvente en ambos niveles de aceptación, esto nos indica que se obtiene casi la misma cantidad de proteína soluble a cualquier tipo de relación estudiada.

Por otro lado, para cada relación de harina/solvente se tuvieron 3 tiempos de solubilización; nuevamente, Duncan agrupa estos 3 tiempos en ambos niveles de aceptación (al 99 y 95%), esto es indicativo de que el tiempo de extracción no modifica la cantidad de proteína soluble obtenida.

Para fines de optimización y como sugerencia para su aplicación a nivel industrial, se propone extraer las proteínas a  $30^{\circ}\text{C}$ , pH =10, relación harina-solvente 1/15 utilizando  $\text{H}_2\text{O}$  destilada durante 40 min.

**TABLA N. 22**

Análisis estadístico de la solubilidad a nivel piloto

REL. HARINA /H <sub>2</sub> O	TIEMPO (min.)	% PROTEINA SOLUBLE	ESTADÍSTICO
1/15	20	84.036	Fisher
	40	68.018	Duncan
	60	77.972	$\alpha 0.01 \alpha 0.05$ 20,40,60
1/30	20	73.024	Fisher
	40	66.198	Duncan
	60	80.232	$\alpha 0.01 \alpha 0.05$ 20,40,60
1/45	20	74.392	Fisher
	40	62.128	Duncan
	60	82.928	$\alpha 0.01 \alpha 0.05$ 20,40,60
Fisher Duncan $\alpha 0.01 \alpha 0.05$ 1/15,1/30,1/45			

### 3.3 CONCENTRADO PROTEICO DEL SALVADO DE ARROZ.

Después de realizar la solubilización bajo las condiciones ya mencionadas se ajusto a pH 7 (con HCl 0.1N) el sobrenadante en el cual se encuentran las proteínas solubles para que el aislado presentara características físicas deseables (olor, color y textura). El siguiente paso fue pasteurizar para eliminar la flora microbiana presente, esto se realizo para evitar algunas perdidas en el contenido y calidad de las proteínas presentes en el salvado de arroz ya que algunos microorganismos pueden utilizar como fuente de alimentación precisamente este tipo de macromoléculas.

El sobrenadante a pH 7 y pasteurizado se congeló inmediatamente a  $-40^{\circ}\text{C}$  con acetona y hielo seco (choque térmico) para su posterior secado por liofilización.

El producto obtenido es de una textura muy suave, con un tamaño de partícula muy fino y homogéneo, de color crema y con un ligero olor a harina nixtamalizada.



### 3.4 PROPIEDADES FUNCIONALES

La discusión de los resultados obtenidos tanto para el salvado de arroz desgrasado y el concentrado proteico se hará comparando los valores obtenidos para estos con los resultados de tres aislados comerciales de soya que actualmente se utilizan en la industria de alimentos.

#### 3.4.1 CAPACIDAD DE ABSORCIÓN DE AGUA

Esta prueba se reporta como el valor en el cual se observa la presencia de una película de agua, cantidad mínima liberada en las condiciones experimentales que en este caso para los aislados de soya comerciales fue de entre 560 y 700 mL agua/100g muestra; los valores obtenidos para las muestras de salvado de arroz resultan muy por debajo de los obtenidos para los de soya (aproximadamente una cuarta parte). Esta propiedad funcional no resulta muy favorable para las proteínas del salvado de arroz porque las muestras de salvado no absorben mucha agua, posiblemente a que las proteínas no presentan una buena interacción disolvente-proteína y tal vez si interacciones proteína-lípidos y proteína-proteína; aunque también si se analizan los análisis proximales de dos aislados de soya (981 y 646 ver anexo III) es interesante notar el alto contenido de carbohidratos solubles lo cual sugiere adulteración del aislado con gomas o con almidones

**TABLA N. 23**

Absorción de Agua (mL agua/100g muestra)

SALVADO DESGRASADO	CONCENTRADO PROTEICO	ARDEX F	PROFAM 646	PROFAM 981
150±0.0	160±0.0	600±0.0	560±0.0	700±0.0

#### 3.4.2 CAPACIDAD DE ABSORCIÓN DE ACEITE.

Aquí resulta el fundamento como una medida de la cantidad de aceite que la muestra es capaz de retener en su estructura observándose como una película apenas perceptible de aceite en la superficie de la muestra, tras centrifugar. En este caso los aislados comerciales de soya presentan una absorción de aceite similar a las de las proteínas del salvado de arroz (entre 80 y 130 mLaceite/100gmuestra). Las proteínas presentes contienen grupos hidrófobos (carga "neutra") que propician este tipo de interacción con el aceite tanto en el salvado de arroz como en los aislados comerciales, el aceite agregado se inserta en la matriz proteico-lipídica y esta impide su liberación al ser centrifugada la muestra

Los resultados obtenidos se observan en la siguiente tabla. (VER TABLA No. 24).

**TABLA N. 24**

Absorción de aceite (mL aceite/100 g muestra)

SALVADO DESGRASADO	CONCENTRADO PROTEICO	ARDEX F	PROFAM 646	PROFAM 981
130±0.00	80±0.00	130±0.00	80±0.00	110±0.00

### 3.4.3 HUMECTABILIDAD

Esta medición cualitativa resulta de la capacidad que tiene un polvo (proteico) para dispersarse en agua y formar una suspensión estable.

El término de humectabilidad está estrechamente relacionado con el contenido de humedad de la muestra en estudio; si observamos, la humedad del salvado desgrasado y homogeneizado es de 5.2% y su grado de humectación es regular, al reducir este contenido de humedad a 2.4% por el proceso de secado la humectabilidad aumenta, por lo tanto, podemos decir que el contenido de humedad es inversamente proporcional al grado de humectabilidad de la muestra ya que este parámetro permite observar su incorporación de la muestra con el agua y la capacidad de la misma para dispersarse.

Aunque los aislados de soya comerciales presentan concentraciones de proteína de aproximadamente 90%, la humectación que se reporta es de mala (ARDEX F y PROFAM 981) y solo PROFAM 646 da un valor aceptable (buena) Las proteínas del salvado de arroz al aumentar la concentración de proteína aumentan, por consiguiente, su humectabilidad (de regular a excelente). (VER TABLA No. 25)

Esta propiedad resulta interesante en la elaboración de polvos para bebidas.

**TABLA No. 25**

Humectabilidad\* de las muestras de salvado y aislados de soya

SALVADO DESGRASADO	CONCENTRADO PROTEICO	ARDEX F	PROFAM 646	PROFAM 981
RÉGULAR	EXCELENTE	MALA	BUENA	MALA

\*medición visual por duplicado

#### 3 4 4 SOLUBILIDAD vs pH.

La solubilidad a diferentes valores de pH es un parámetro que permite conocer las condiciones de extracción y obtención del paquete proteico así como la separación de las diversas fracciones proteicas presentes en una muestra. Las proteínas tienen carga neta, repulsión electrostática e hidratación iónica; factores que promueven la solubilidad de las proteínas.

*Algunas de propiedades funcionales tienen relación directa con la solubilidad (espumado, emulsificado, y gelación).*

El salvado de arroz desgrasado y homogeneizado presenta su máxima solubilización a pH's alcalinos, observándose que se recupera casi el 99% a pH de 10, son valores lógicos si tomamos en cuenta que las proteínas que se encuentran en el salvado de arroz son globulinas y albúminas, proteínas solubles a pH's básicos. En pH's ácidos observamos que la solubilidad sólo alcanza el 27%, resultado que nos da una aplicación en alimentos no sea para jugos y néctares que son productos ácidos.

En el concentrado proteico se observa que la solubilización de las proteínas alcanza únicamente el 72% a pH 10, también observamos que a pH 4 se encuentra el valor mínimo de solubilización lo que indica que las proteínas tienen su punto isoeléctrico a este pH. El comportamiento antes y después de concentrar las proteínas se refleja en la disminución de la solubilidad a pH alcalinos.

El proceso de extracción y purificación de las proteínas del salvado de arroz provocan una disminución en la solubilización de las mismas debido a que se favorecen más las interacciones proteína-proteína que las de proteína-solvente en el concentrado proteico de salvado; caso contrario sucede en el salvado desgrasado y homogeneizado donde las proteínas prefieren interactuar con el solvente que con ellas mismas.

Los aislados de soya utilizados como patrón de referencia presentan su máxima solubilidad a pH de 10, observando que el mayor % de proteína soluble lo tiene el ARDEX F con 65.25%, cabe mencionar que los 3 aislados presentan su punto isoeléctrico a pH 4 con la mínima solubilización de sus proteínas, además, vemos que PROFAM 981 presenta el valor mínimo de solubilidad con apenas 10.98% de proteínas solubles. (VER FIG.16 a 20, TABLA No.2 ANEXO I)

fig. 16  
SALVADO DE ARROZ DESGRASADO

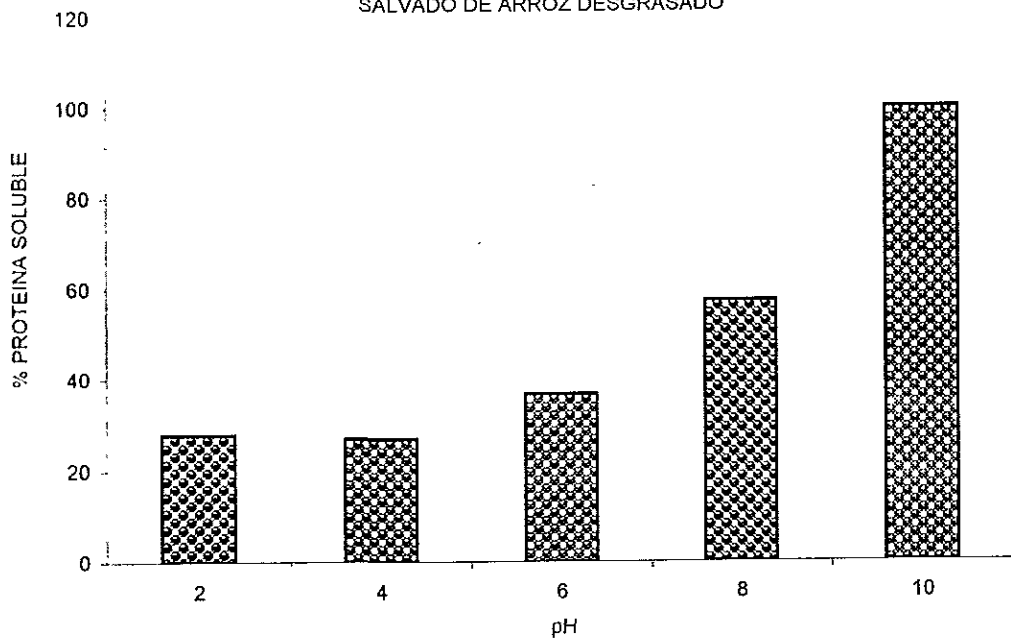
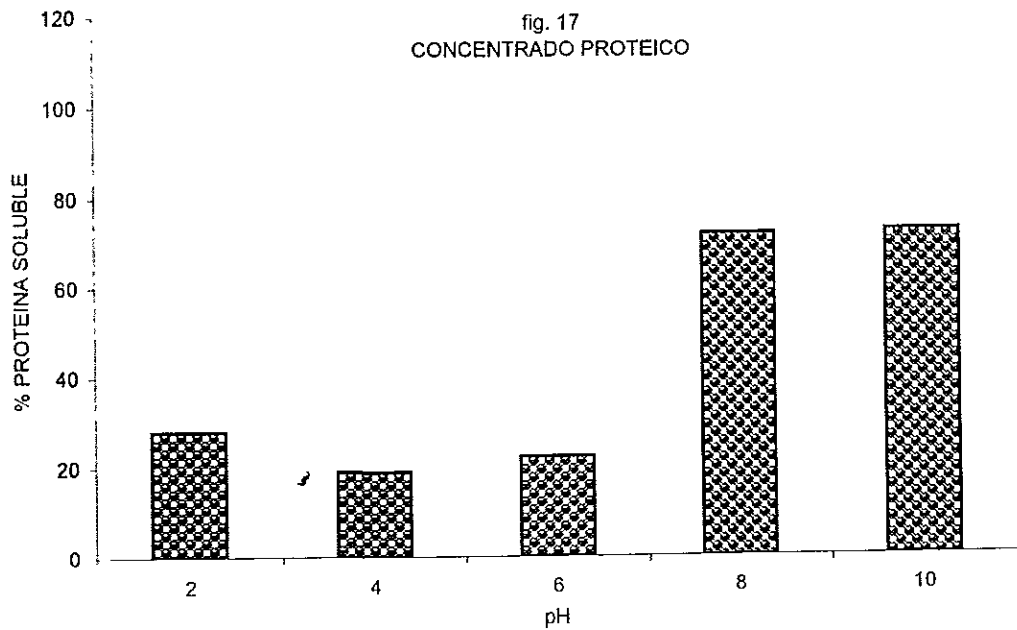


fig. 17  
CONCENTRADO PROTEICO



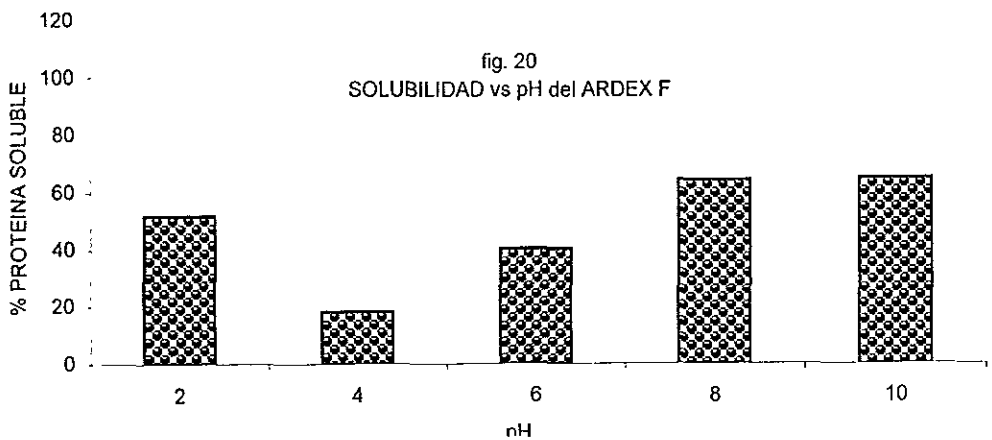
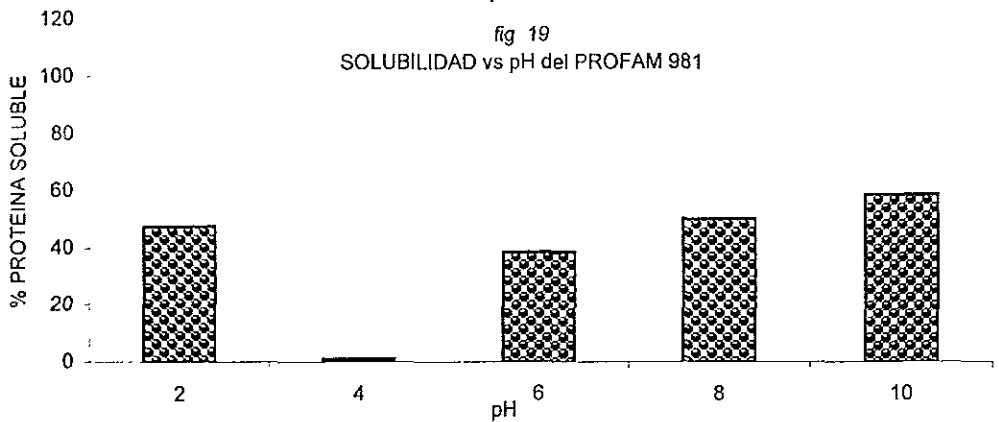
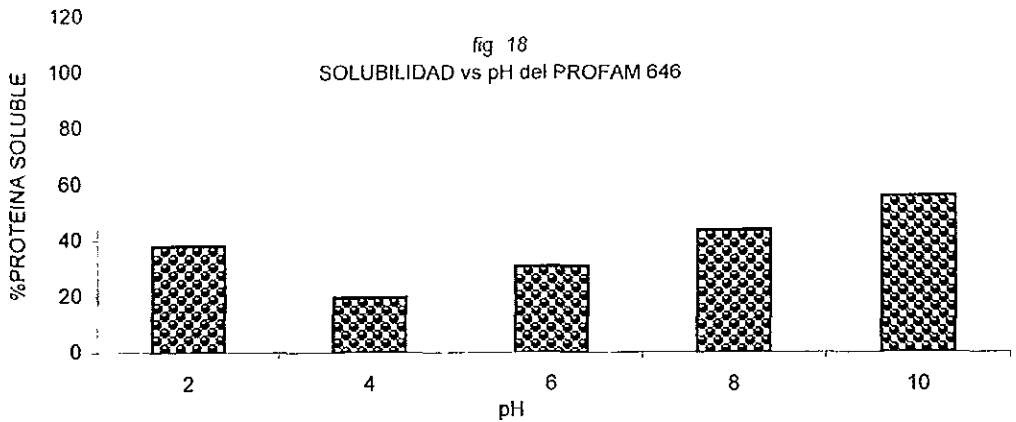


FIG 16, 17, 18, 19 y 20

SOLUBILIDAD vs pH

SOLVENTE: AGUA DESTILADA

SUSPENSIÓN AL 1% DE PROTEÍNA Determinación DE PROTEÍNA SOLUBLE POR EL MÉTODO DE LOWRY-SDS

% PROTEÍNA SOLUBLE =  $\frac{g \text{ de proteína soluble}}{100 \text{ g de muestra}}$

TABLA No 2 ANEXO I

### 3.4.5 CAPACIDAD Y ESTABILIDAD DE LA ESPUMA

La capacidad y estabilidad de la espuma requiere un cierto grado de solubilidad de las proteínas para favorecer su acomodo en la interfase proteína-aire.

Estas dos propiedades se evaluaron a pH de 4 y 7 observándose una mejor capacidad y estabilidad a pH 7 en todas las muestras estudiadas.

En cuanto al salvado desgrasado y homogeneizado vemos que la capacidad y estabilidad aumenta conforme aumenta el contenido de proteína (de 0.1 a 5.0%) y el pH de 4 a 7.

Los valores obtenidos de estabilidad en función del tiempo son muy bajos (del 94% para pH 7 y del 15% para pH 4); se observa que después de 30 min la espuma desaparece a pH 4; a pH de 7 la estabilidad se mantiene constante a partir de los 10 min. en todas las concentraciones analizadas. En 5% de proteína tenemos un 93% de volumen y desciende a 72% manteniéndose hasta los 120 min. que duró la prueba

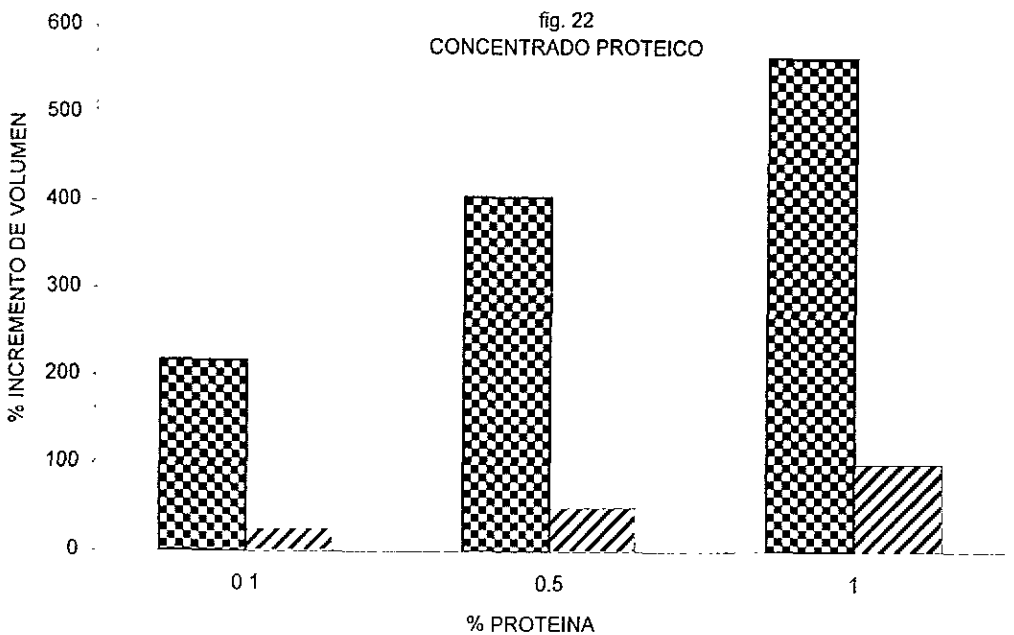
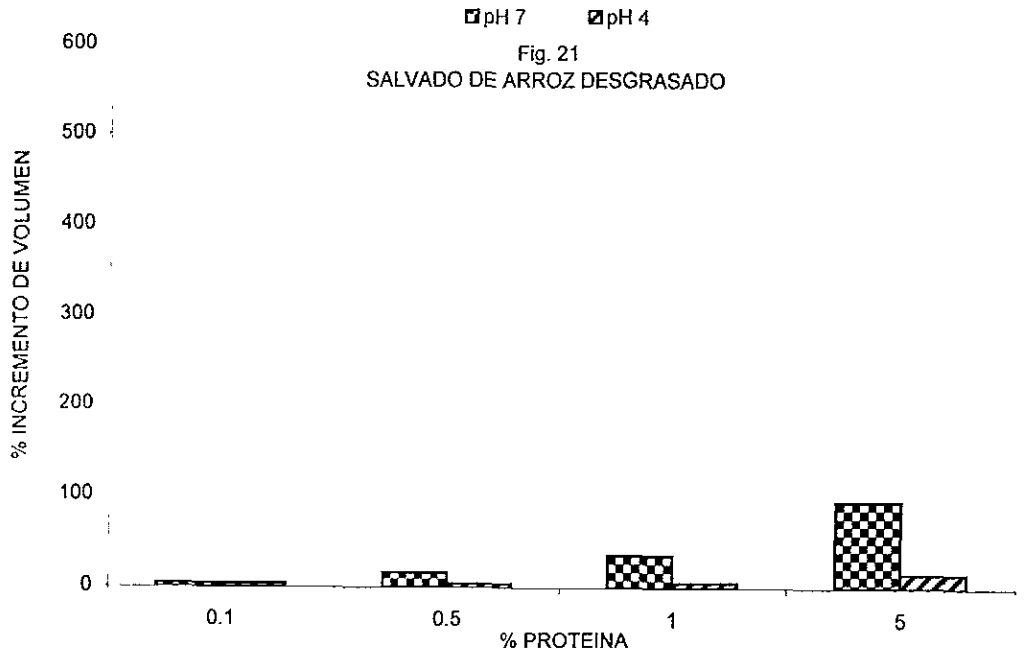
Los resultados obtenidos para el concentrado proteico a pH de 7 son del 600% de incremento en el volumen lo que indica una mejora en esta propiedad, es decir, las proteínas concentradas presentan mayor estabilidad en la interfase aire-solvente además de que favorecen la incorporación de aire a la matriz proteica. En este caso la estabilidad de la espuma permanece constante hasta los 120 min. con 0.5% y 1% de proteína y para 0.1% la estabilidad disminuye conforme aumenta el tiempo hasta llegar a cero a los 120 min.

Con respecto al pH de 4 obtenemos un % de incremento en el volumen de apenas 100 para 1.0% de proteína pero la espuma desaparece casi al minuto de prueba, por tal motivo la gráfica de estabilidad de la espuma a pH de 4 para el concentrado proteico no se ilustra.

Los aislados de soya no presentan capacidad y estabilidad de la espuma tan elevada como la presentada por el concentrado proteico de salvado. La tendencia es similar entre los valores obtenidos de espuma de los aislados: aumenta conforme aumenta la concentración de proteína y el valor de pH y disminuye hasta casi desaparecer conforme aumenta el tiempo de prueba; los valores máximos alcanzados son del 185% para PROFAM 981 a pH de 7 con 5% de proteína teniendo el valor máximo.

Por estas cualidades el concentrado proteico de salvado se puede proponer como aditivo en alimentos de reposteria como mousse, crema batida, pasteles, helados, etc. (VER FIG. 21 a la 33 TABLAS 3 a 13

ANEXO B



■ pH 4    ■ pH 7  
 fig. 23

CAPACIDAD DE ESPUMADO del PROFAM 646

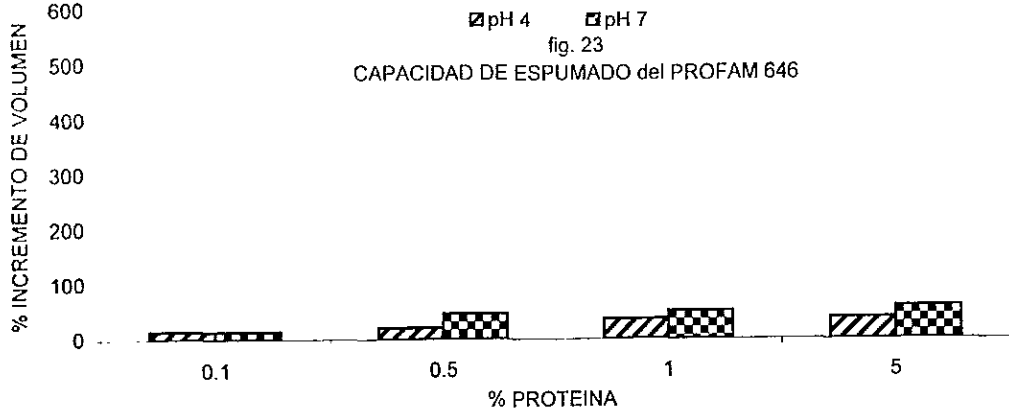


fig. 24

CAPACIDAD DE ESPUMADO del PROFAM 981

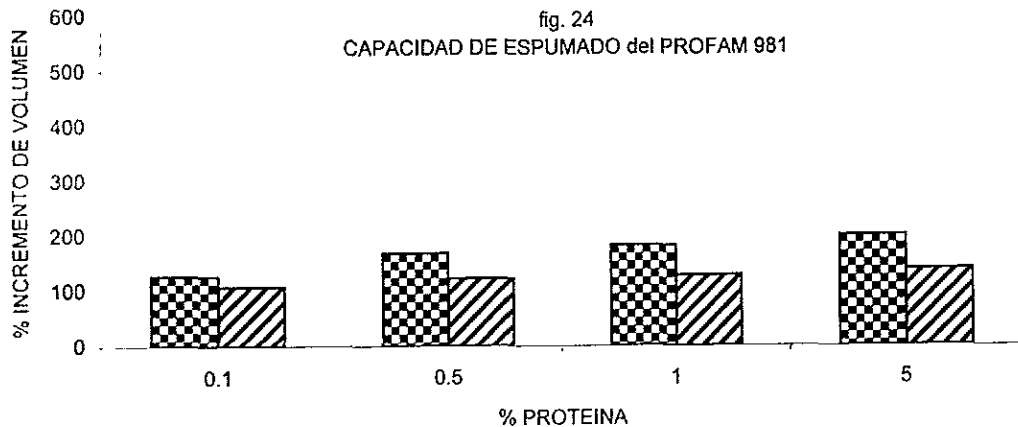


fig. 25

CAPACIDAD DE ESPUMADO del ARDEX F

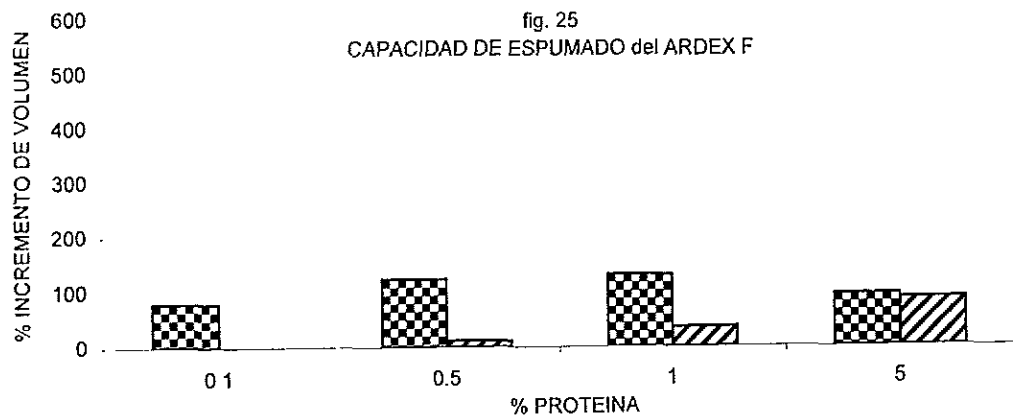


FIG. 21, 22, 23, 24 y 25

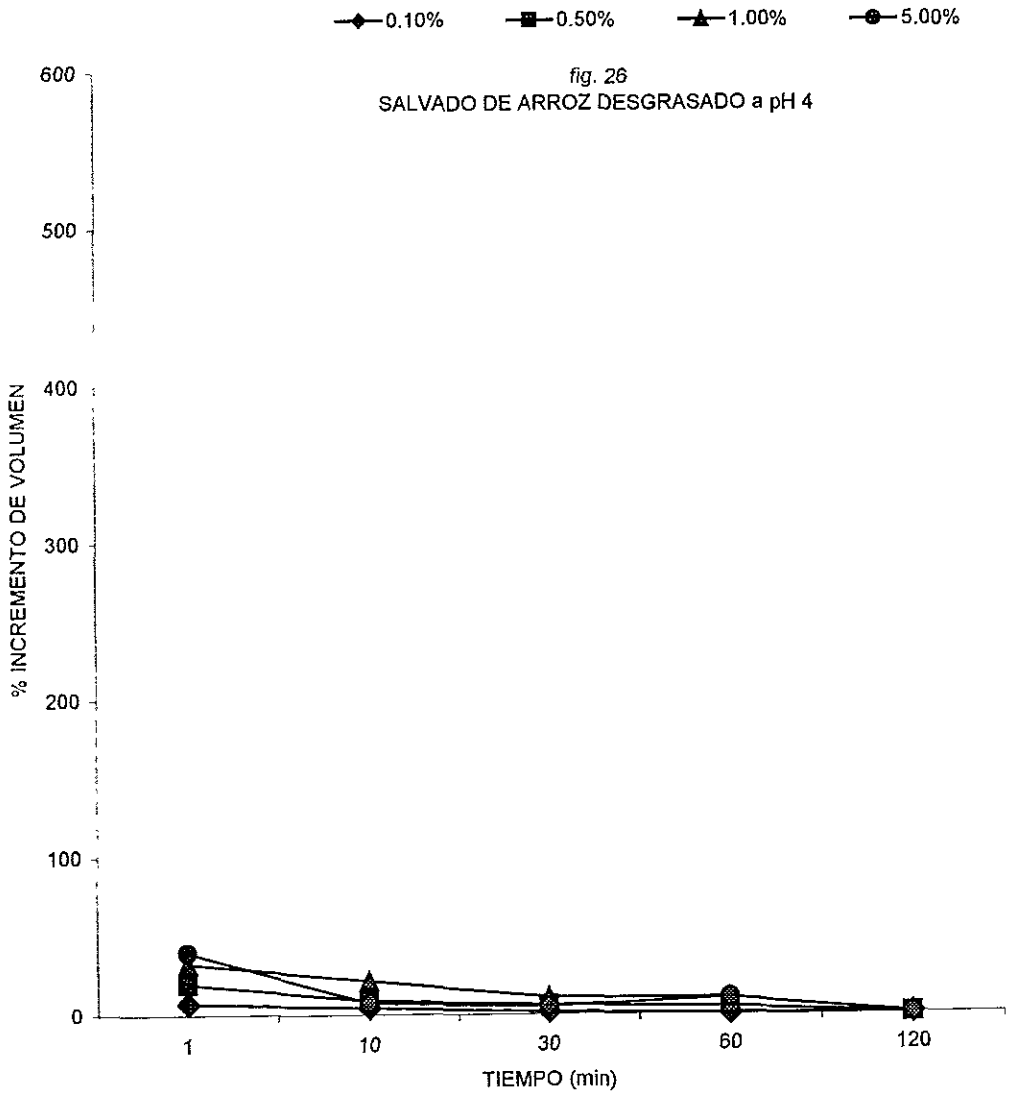
CAPACIDAD DE FORMACIÓN DE ESPUMA EN FUNCIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE PROTEÍNA

% INCREMENTO DE VOLUMEN =  $(\text{vol. final} - \text{vol. inicial}) / \text{vol. inicial} \times 100$

ESPUMA PREPARADA CON BUFFER A pH 4 y 7 con 0.1, 0.5, 1.0 Y 5.0% de proteína

TABLAS No 3 y 4 ANEXO I





■ 0.50% ▲ 1.00% ● 5.00% ◆ 0.10%

fig 27

ESTABILIDAD DE LA ESPUMA del PROFAM 646 a pH 4

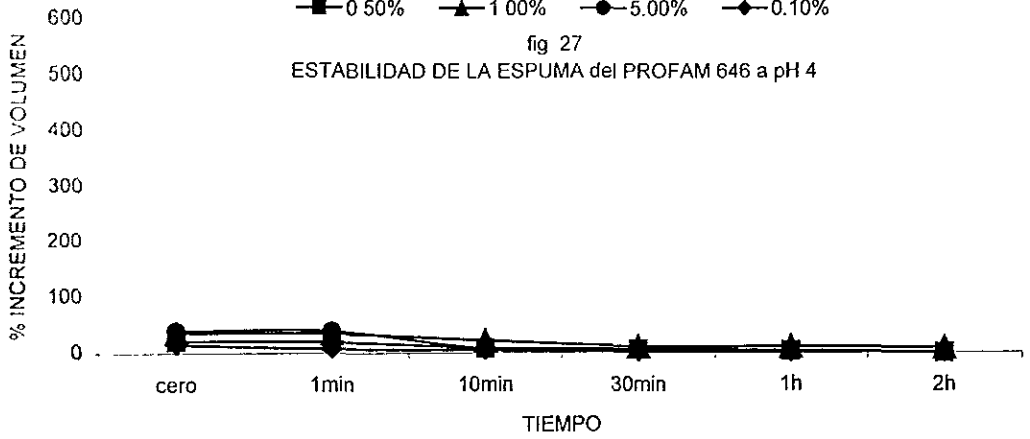


fig 28

ESTABILIDAD DE LA ESPUMA del PROFAM 981 a pH 4

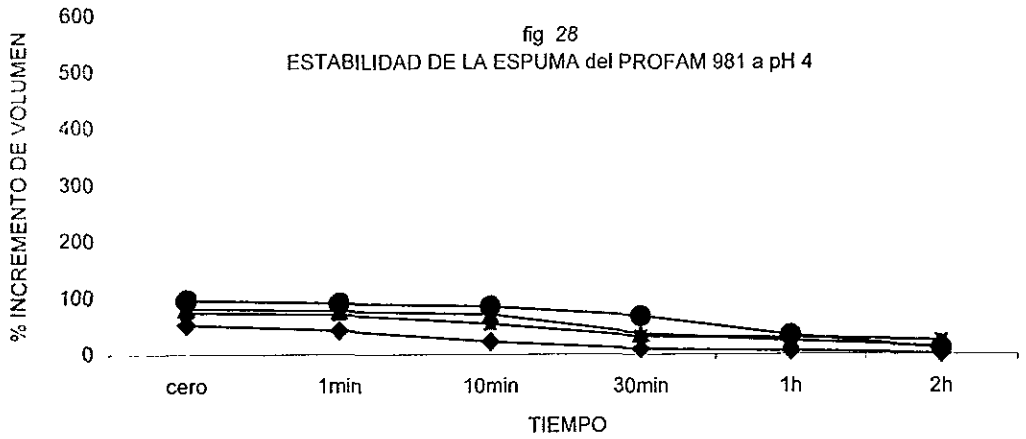
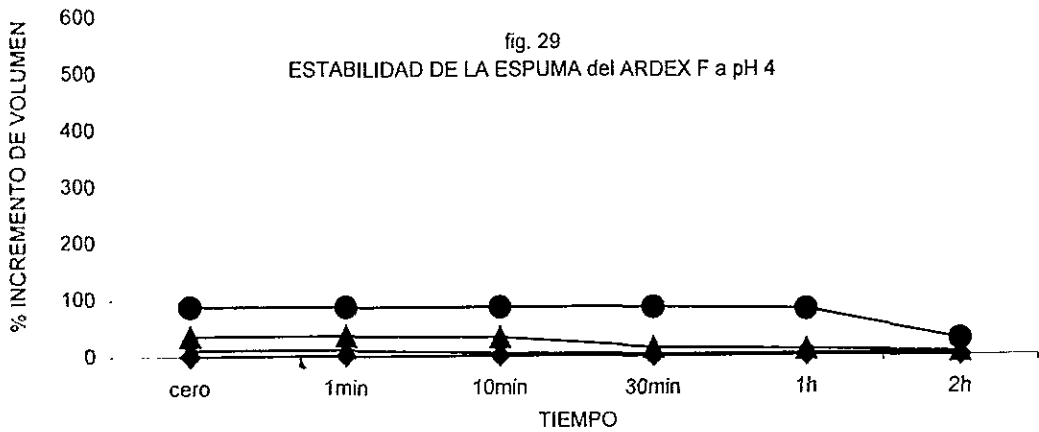


fig. 29

ESTABILIDAD DE LA ESPUMA del ARDEX F a pH 4



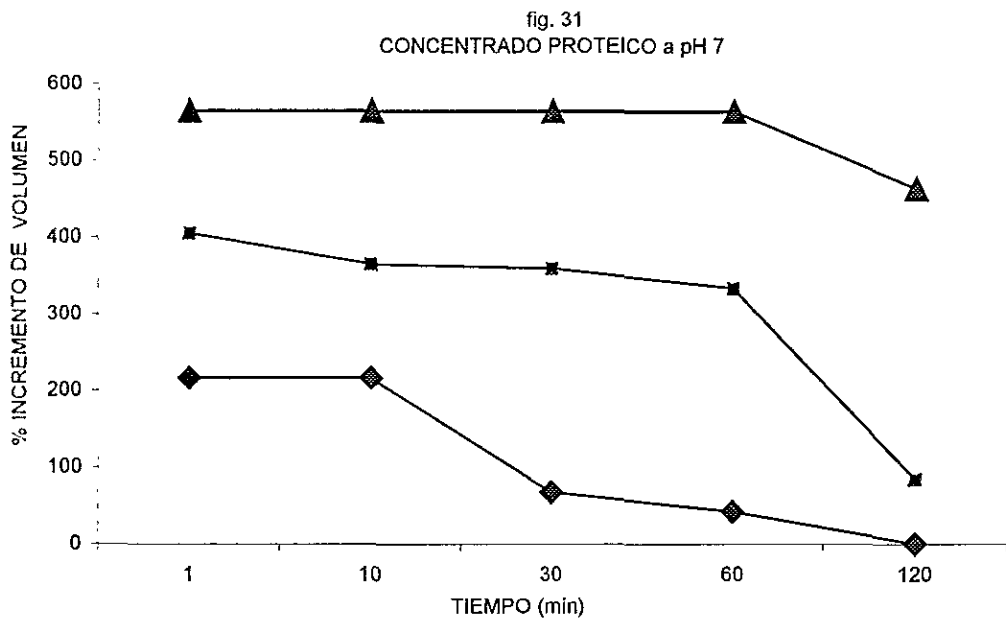
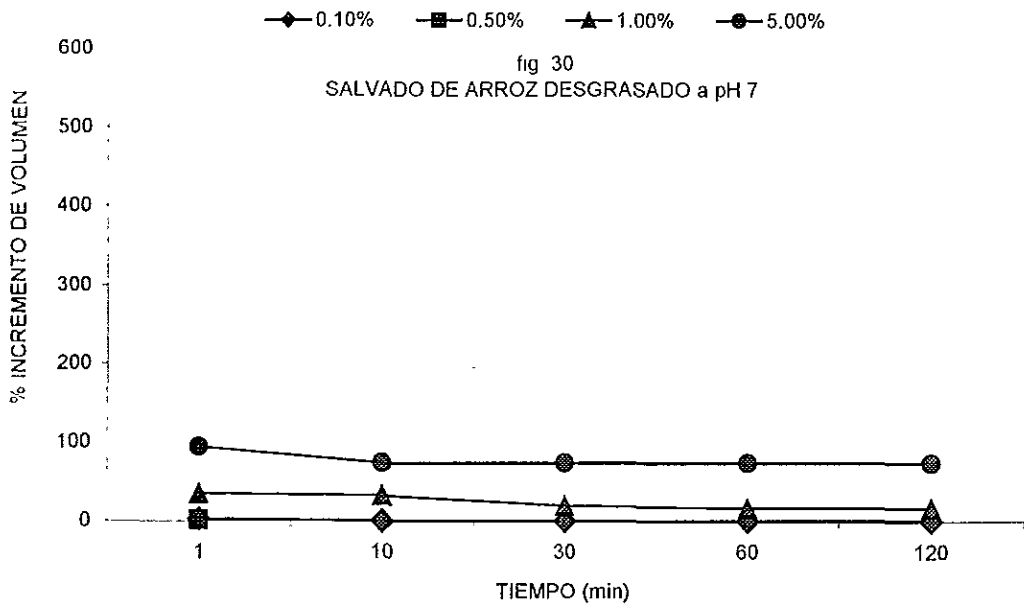


fig. 32  
ESTABILIDAD DE LA ESPUMA del PROFAM 646 a pH 7

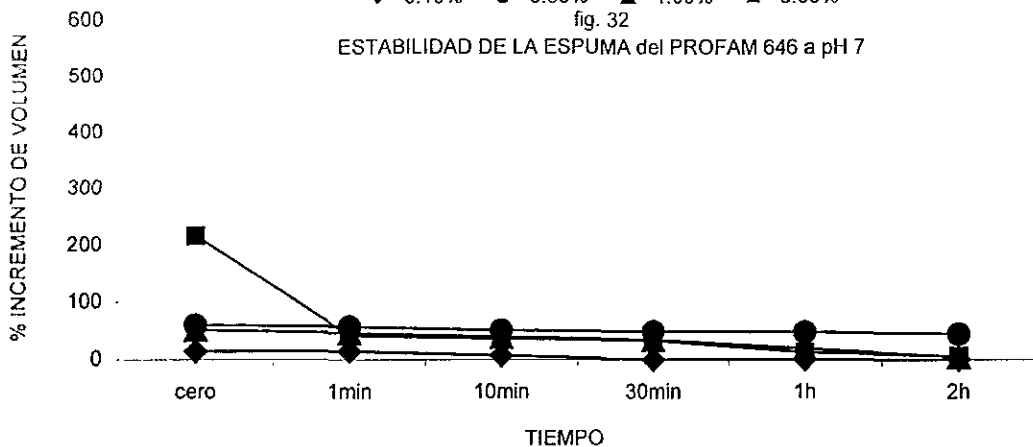


fig. 33  
ESTABILIDAD DE LA ESPUMA del PROFAM 981 a pH 7

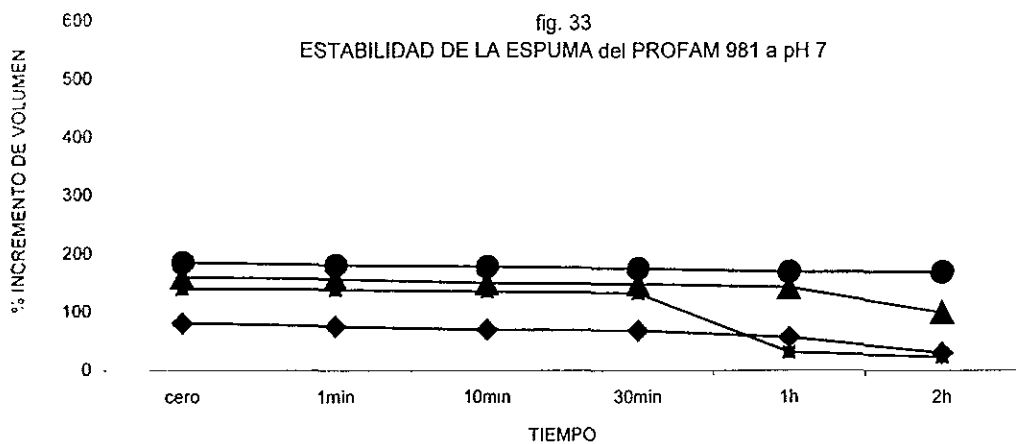


fig. 34  
ESTABILIDAD DE LA ESPUMA del ARDEX F a pH 7

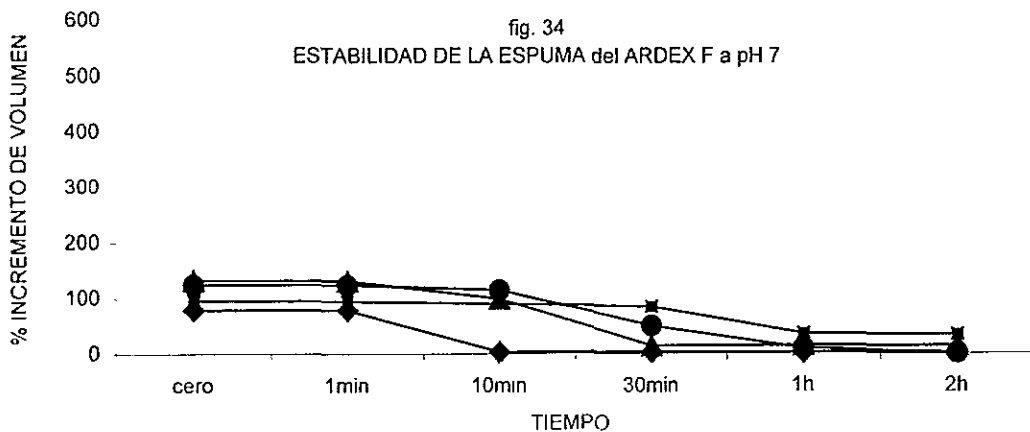


FIG 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32 y 33  
ESTABILIDAD DE LA ESPUMA EN FUNCIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE PROTEÍNA Y DEL TIEMPO (min)  
% INCREMENTO DE VOLUMEN = (vol. final - vol. inicial / vol. inicial) X 100  
espumas preparadas al 0.1, 0.5, 1.0 Y 5.0% de proteína (p/v) a 2 diferentes valores de pH (4 y 7)  
TABLAS No 5 a 13 ANEXO I

### 3 4 6 ESTABILIDAD DE EMULSIÓN E ÍNDICE DE ACTIVIDAD EMULSIFICANTE.

El índice de actividad emulsificante (IAE) evalúa la capacidad de las proteínas para formar emulsiones al disminuir la tensión interfacial presente en la solución agua-aceite. Las emulsiones formadas presentan diversos grados de estabilidad, la cual es medible bajo la cantidad de aceite que coalesce en la muestra

Referente a la estabilidad de emulsión la muestra de salvado desgrasado presenta un % de aceite coalescido igual a cero a partir de 0.5% de proteína para pH 7, mientras que la emulsión presenta su 100% de estabilidad al 1% de proteína para pH de 4, observándose que esta última comienza a ser estable al 0.5% de proteína con únicamente 10% de aceite coalescido

El concentrado proteico de salvado presenta 100% estabilidad de emulsión al 0.5% de proteína presentando al inicio 50% de aceite coalescido a pH de 7; en el caso de pH 4 el % de aceite coalescido es del 100 y 75% para 0.1 y 0.5% de proteína, observando el 100% de estabilidad hasta 1% de proteína. La emulsión a pH de 4 es mucho más estable en el salvado desgrasado que en el concentrado debido a que la solubilidad es directamente proporcional a la capacidad de emulsión que presentan las proteínas, *esta relación no se observa cuando hay presencia de proteínas insolubles, pues solo aquellas que se encuentran en solución podrían migrar a la interfase y ejercer sus propiedades superficiales.*

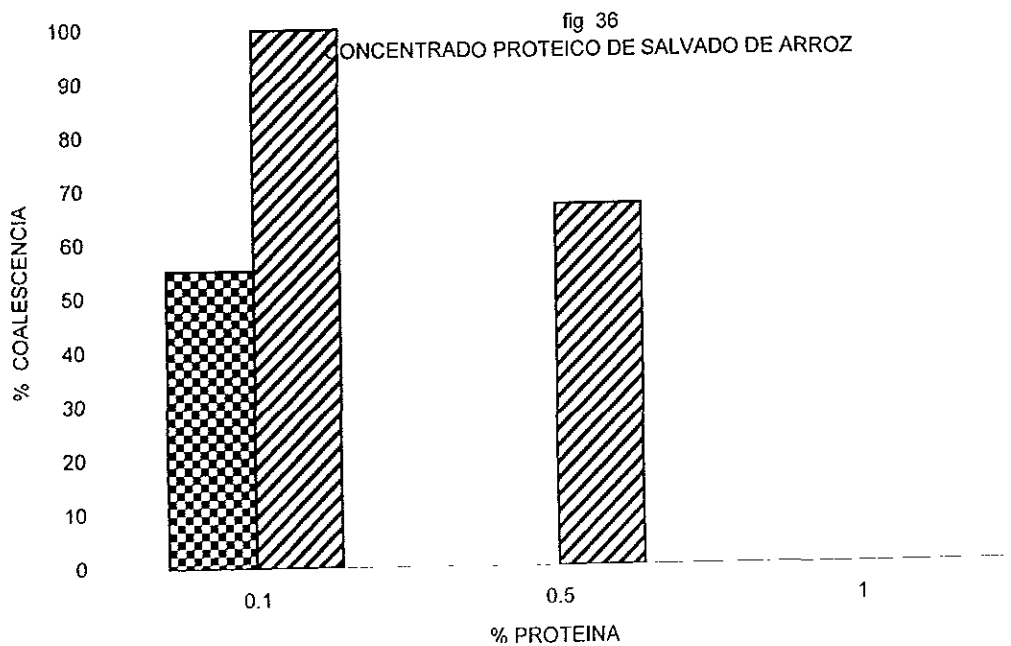
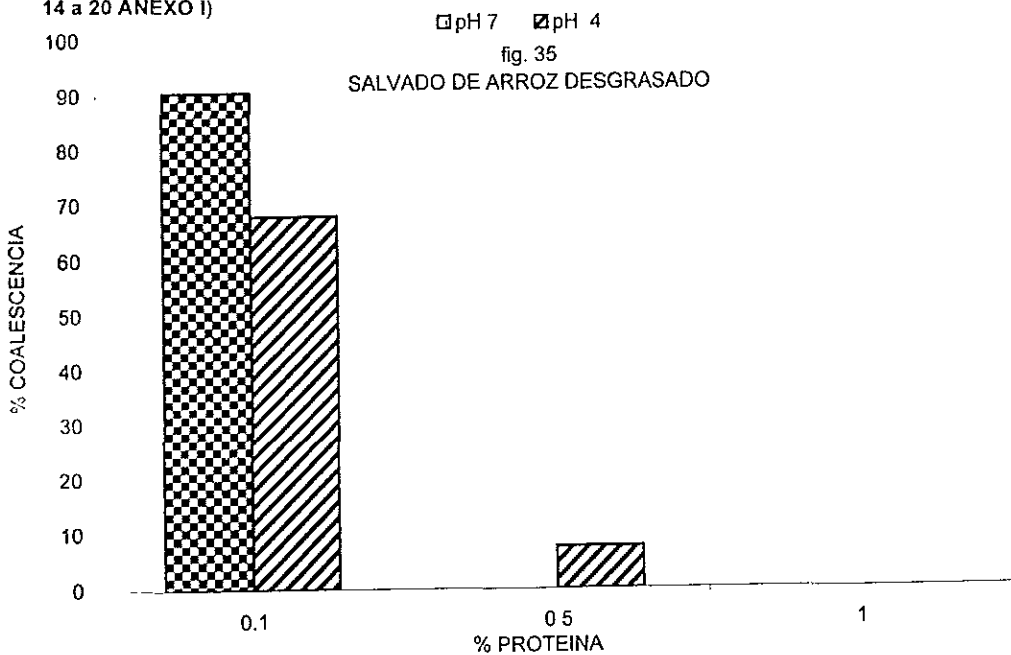
Para los aislados de soya la mejor estabilidad la presenta PROFAM 981 a pH7, ya que desde 0.1% de proteína observamos 100% de estabilidad y para pH de 4 la estabilidad es hasta 5% de proteína ARDEX F y PROFAM 646 presentan 0 y 100% de aceite coalescido con 5% de proteína a pH 4 y 20 y 5% de aceite coalescido con 0.1% de proteína para pH de 7.

Referente al IAE el salvado desgrasado presenta una tendencia en aumento para ambos pH conforme aumenta el % de proteína, sin embargo, a pH 4 los valores son mucho más pequeños que los que se observan a pH de 7, comprobando con esto la mayor actividad a pH básico.

El concentrado proteico la tendencia es similar, sin embargo, los valores de actividad son casi el doble que los presentados en el salvado desgrasado, por tal motivo se puede decir que la actividad emulsificante aumentó conforme las proteínas purificaban.

La comparación con los aislados comerciales nos muestra que la mayor actividad la presenta PROFAM 981 sin igualar o alcanzar los valores obtenidos por el concentrado proteico. (VER FIG. 34 a 49 TABLAS

14 a 20 ANEXO I)



▨ pH 4   ▩ pH 7

fig. 37

ESTABILIDAD DE EMULSION del PROFAM 646

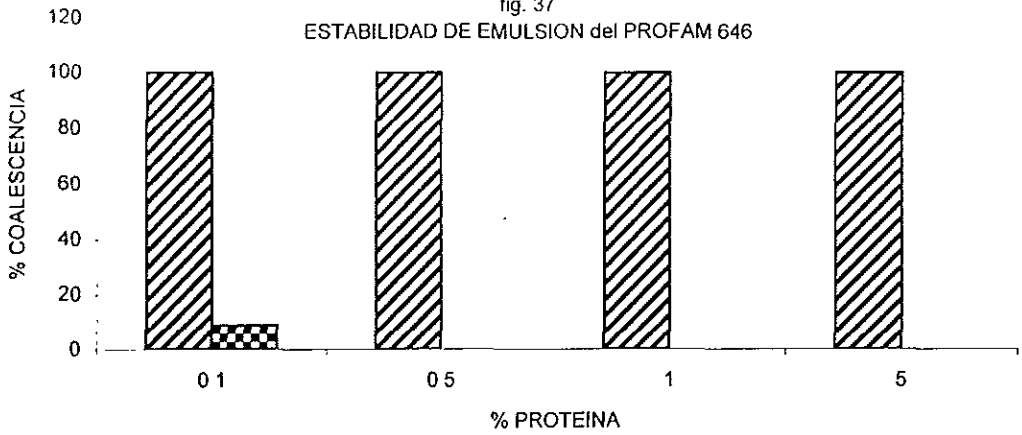


fig 38

ESTABILIDAD DE EMULSION del PROFAM 981

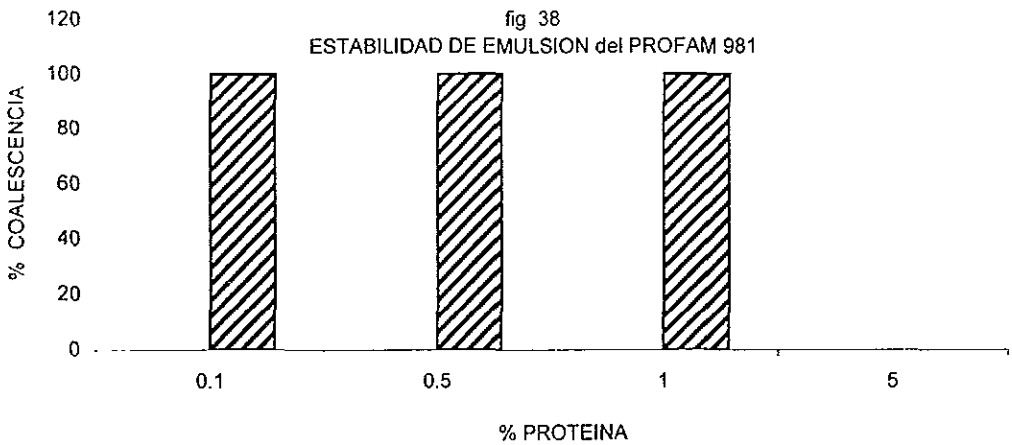


fig. 39

ESTABILIDAD DE EMULSION del ARDEX F

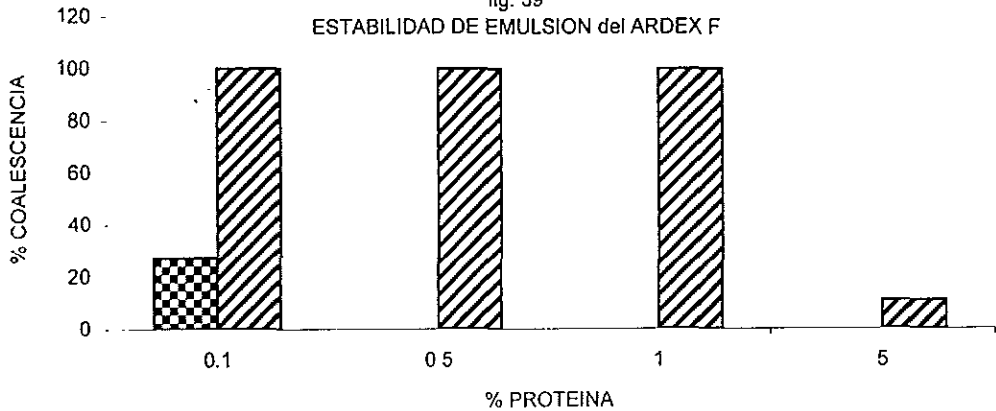


FIG. 35, 36, 37, 38 y 39

ESTABILIDAD DE EMULSION EN FUNCION DE LA CONCENTRACION DE PROTEINA

(100 mL de aceite preparada con 100 mL de emulsion)

emulsiones preparadas al 0.1, 0.5, 1.0 y 5.0% de proteina (p/v) a dos diferentes valores de pH (4 y 7)

TABLAS No. 14 y 15 ANEXO I

fig. 40  
SALVADO DE ARROZ DESGRASADO a pH 4

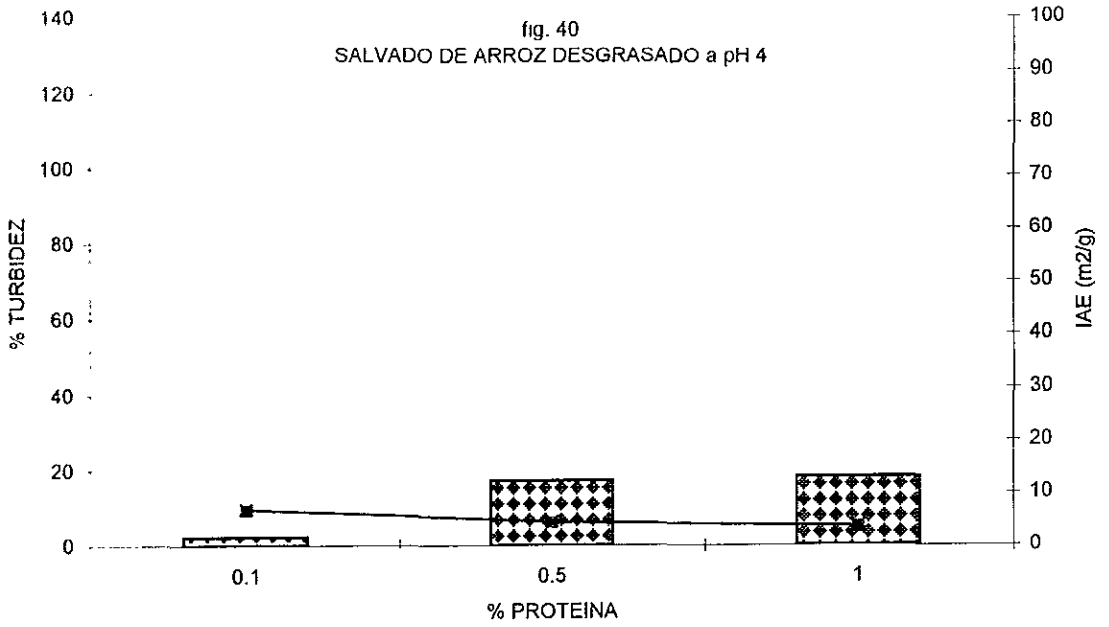
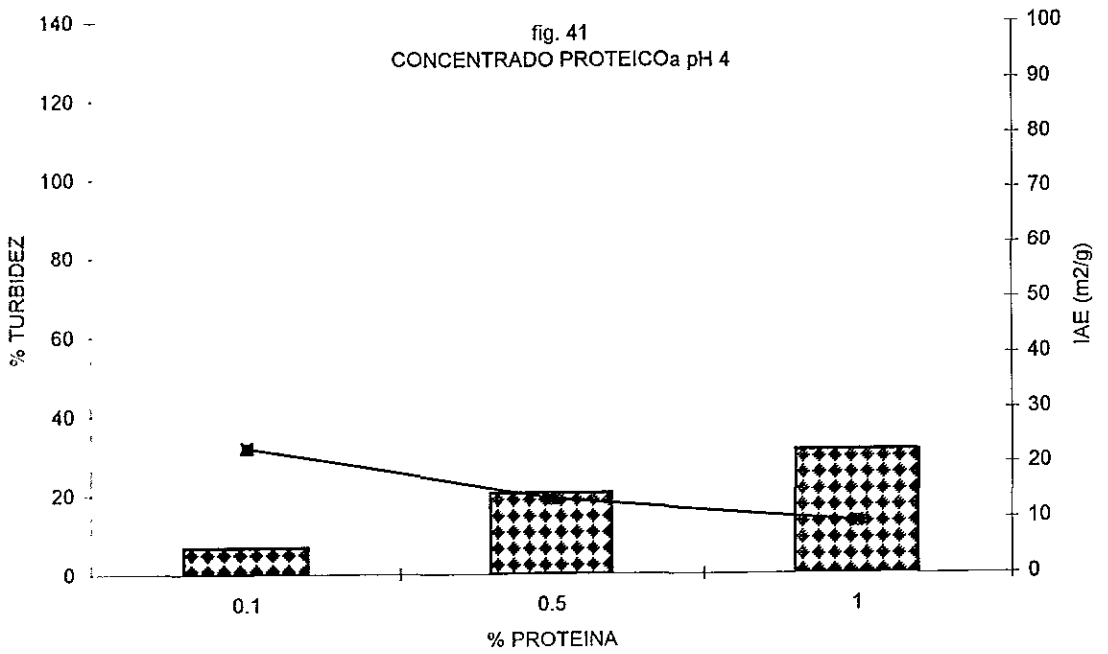
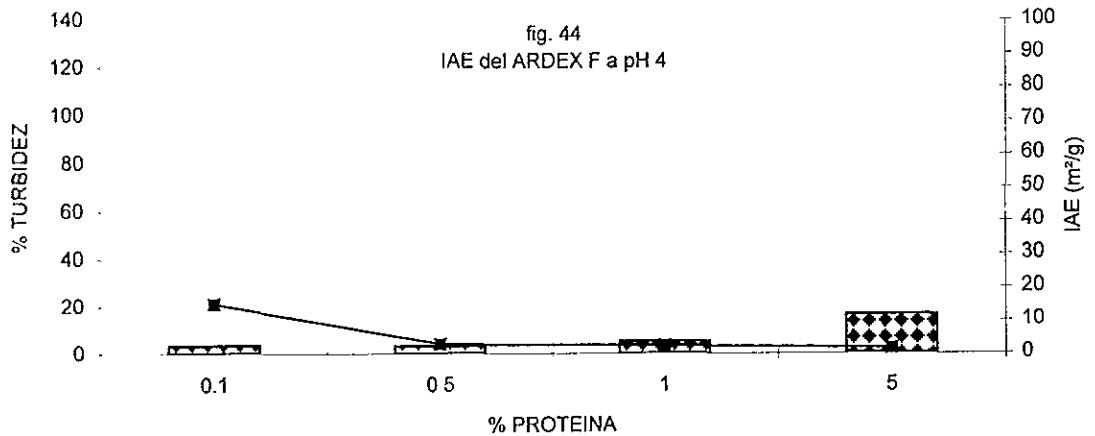
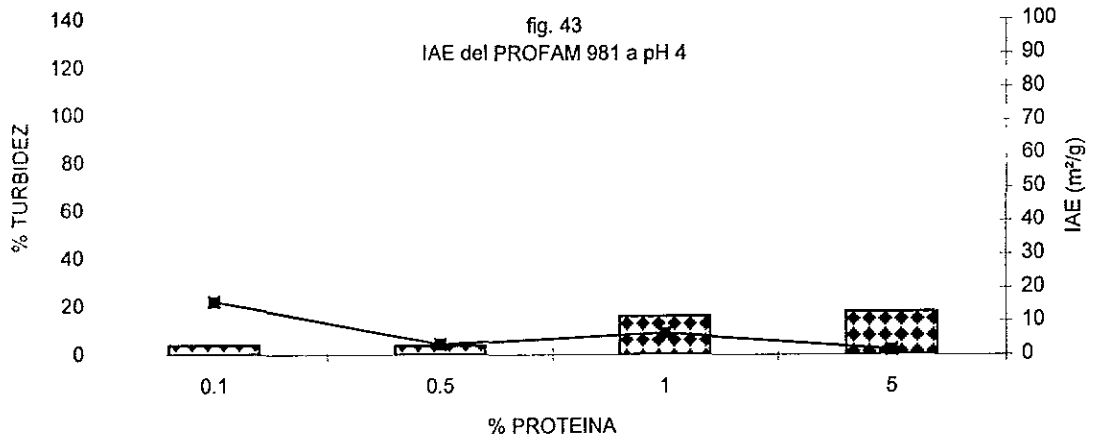
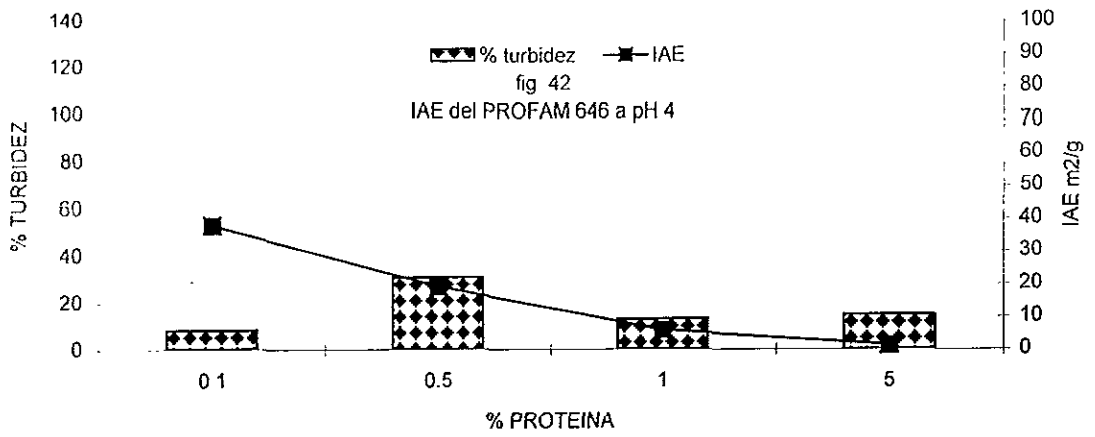
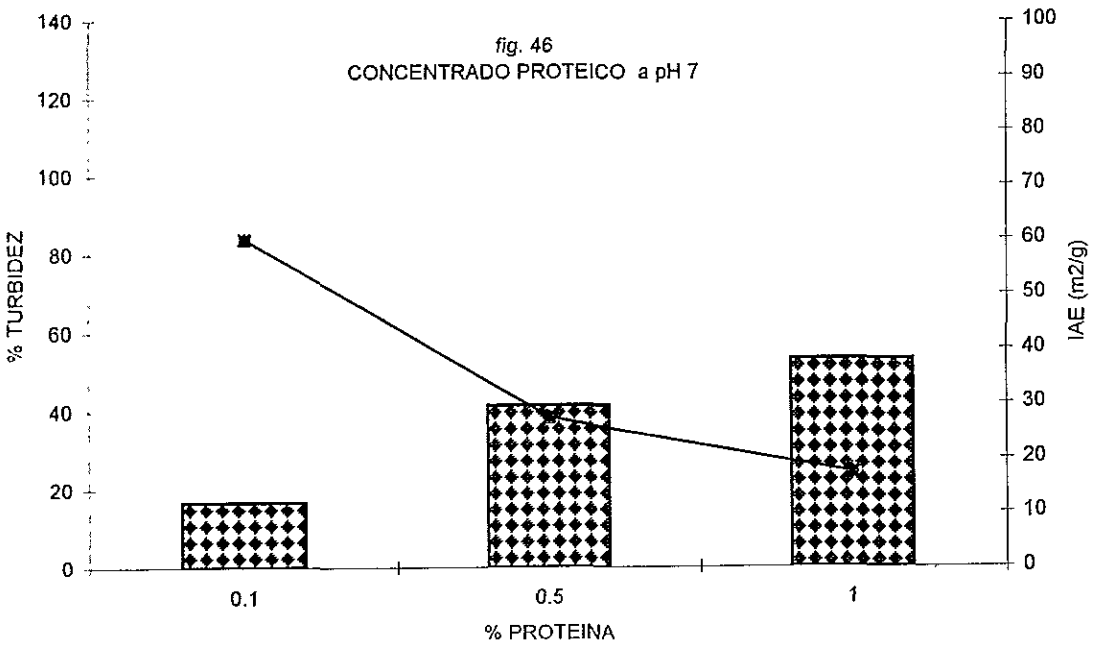
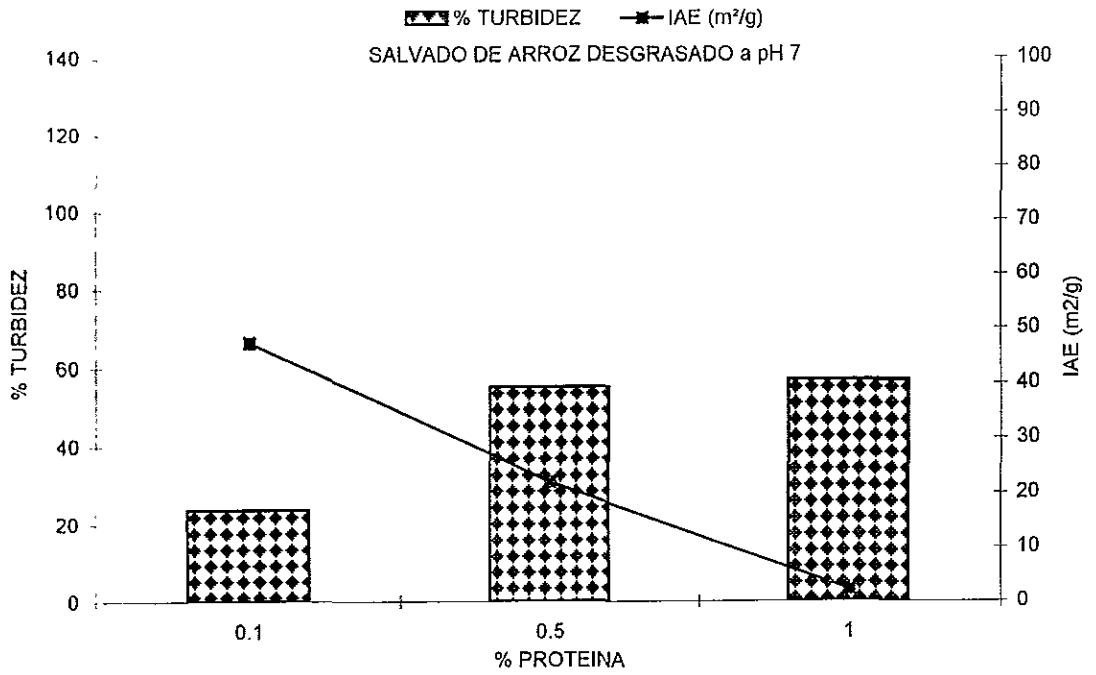


fig. 41  
CONCENTRADO PROTEICO a pH 4









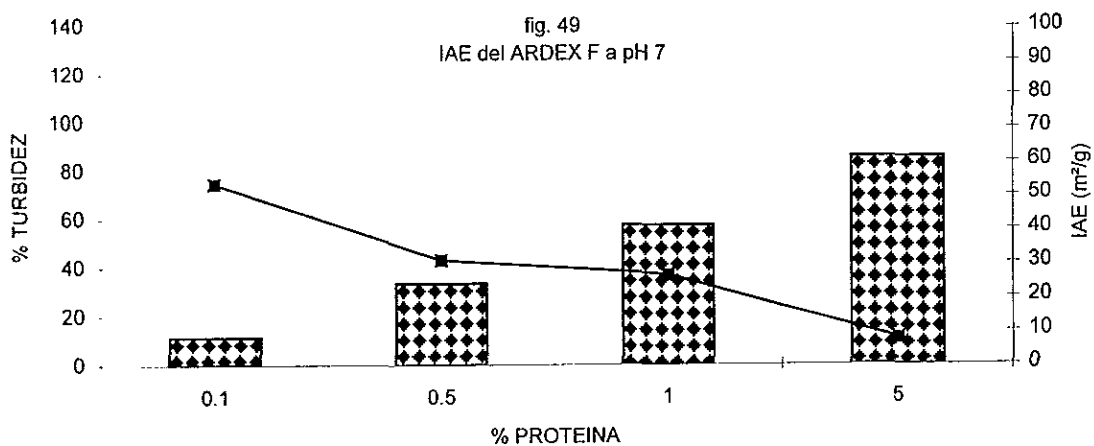
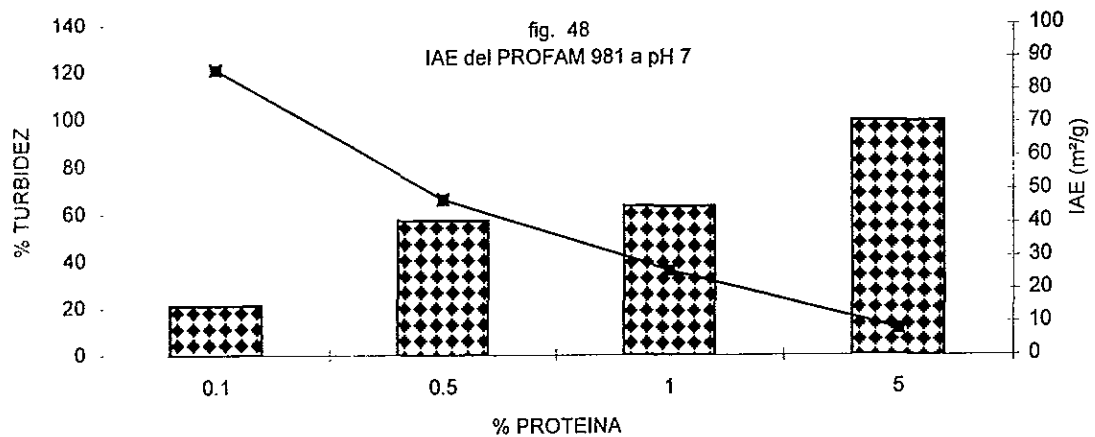
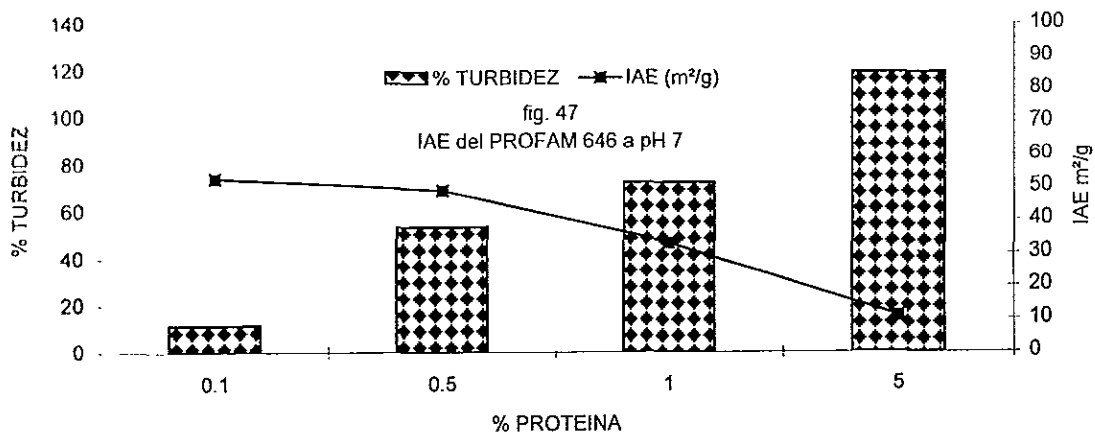


Fig. 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100  
 INDICE DE ACTIVIDAD EMULSIFICANTE EN FUNCION DE LA CONCENTRACION DE PROTEINA  
 (comparadas a 500ppm)  
 Los datos se compararon a 0.1, 0.5, 1.0 y 5.0% de proteína con los diferentes valores de pH (4 y 7)  
 fig. 45 a la 100

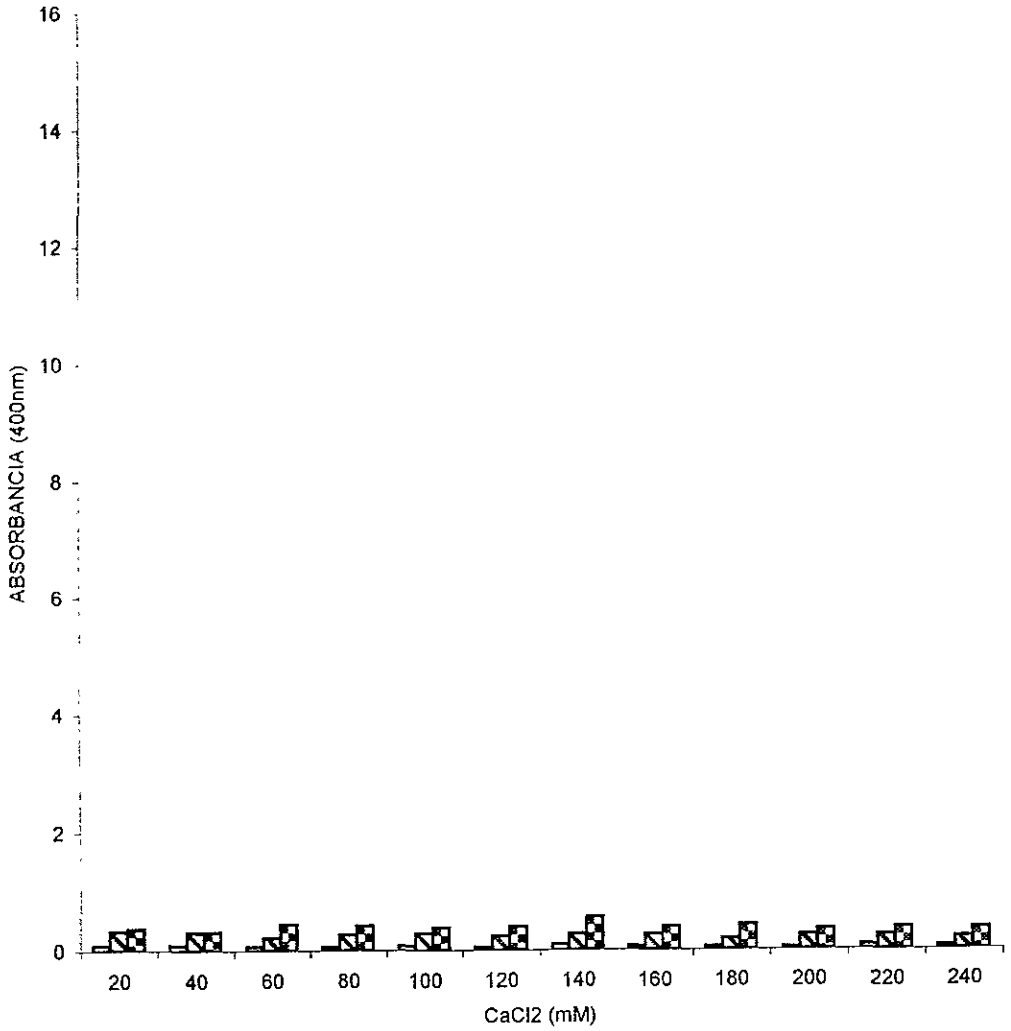
### 3.4.7 GRADO DE AGREGACIÓN DE LAS PROTEÍNAS.

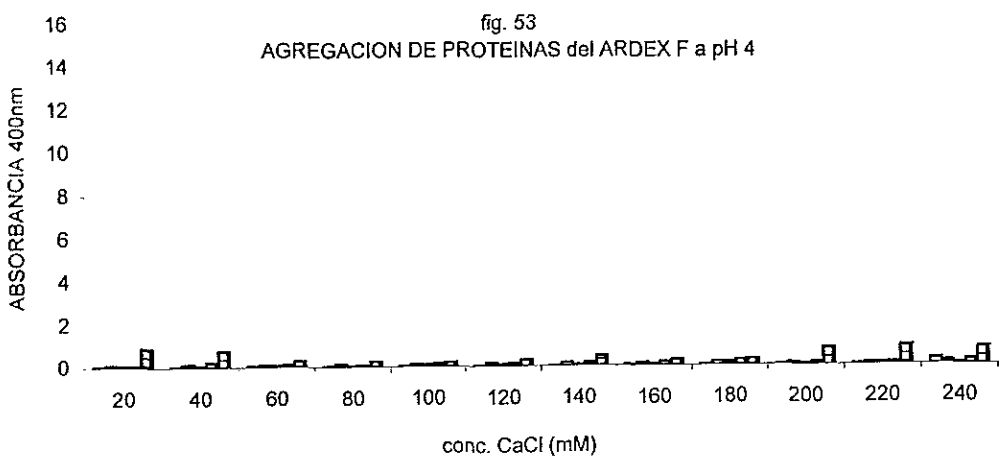
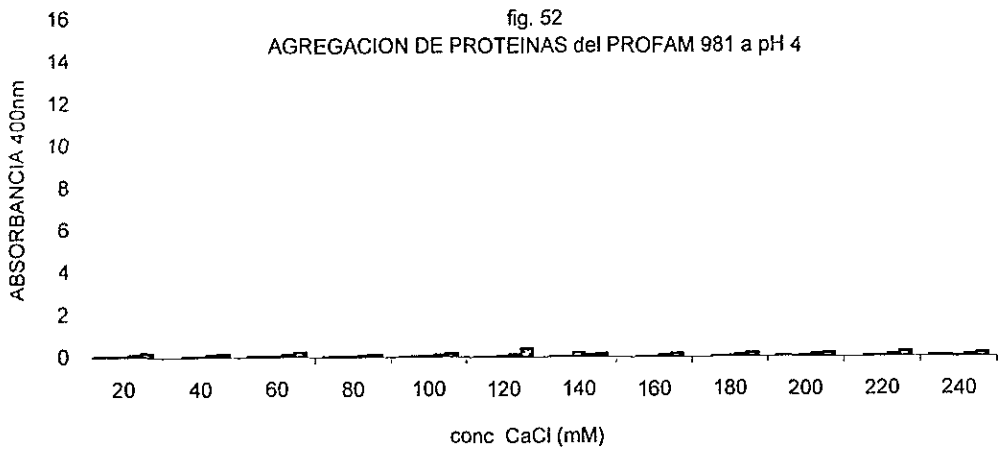
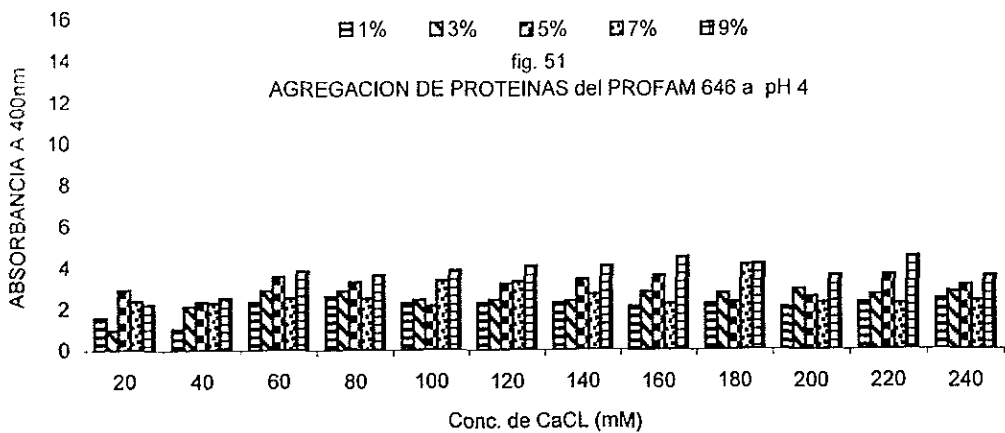
El grado de agregación está relacionado con el poder gelificante que presentan las proteínas en estudio. En esta prueba se mide las interacciones proteína-proteína que se ven favorecidas por la acción de los iones calcio ( $Ca^{++}$ ).

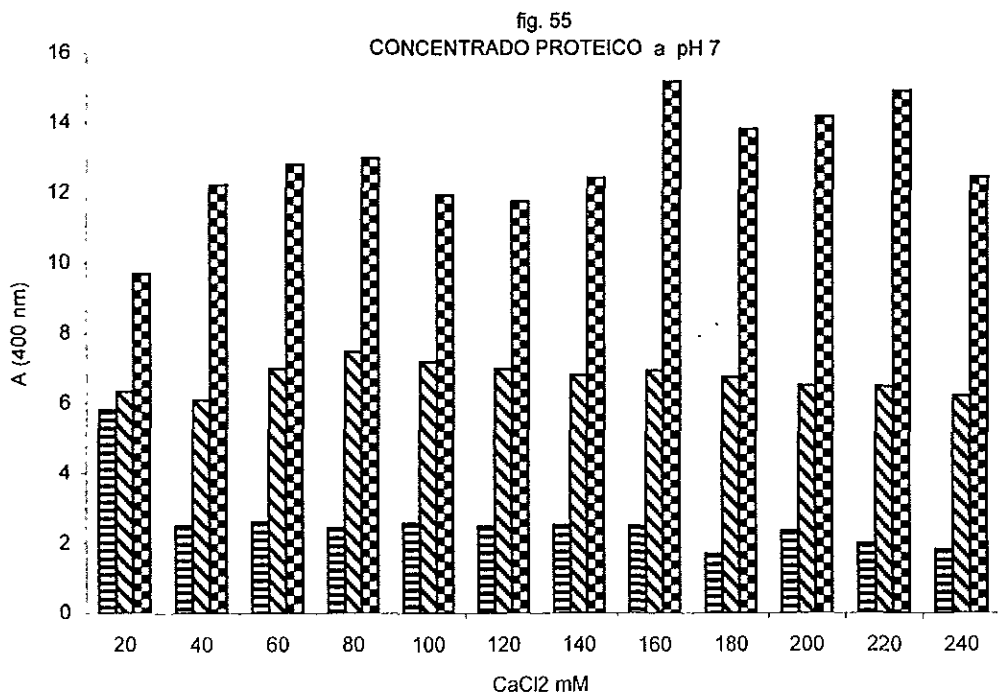
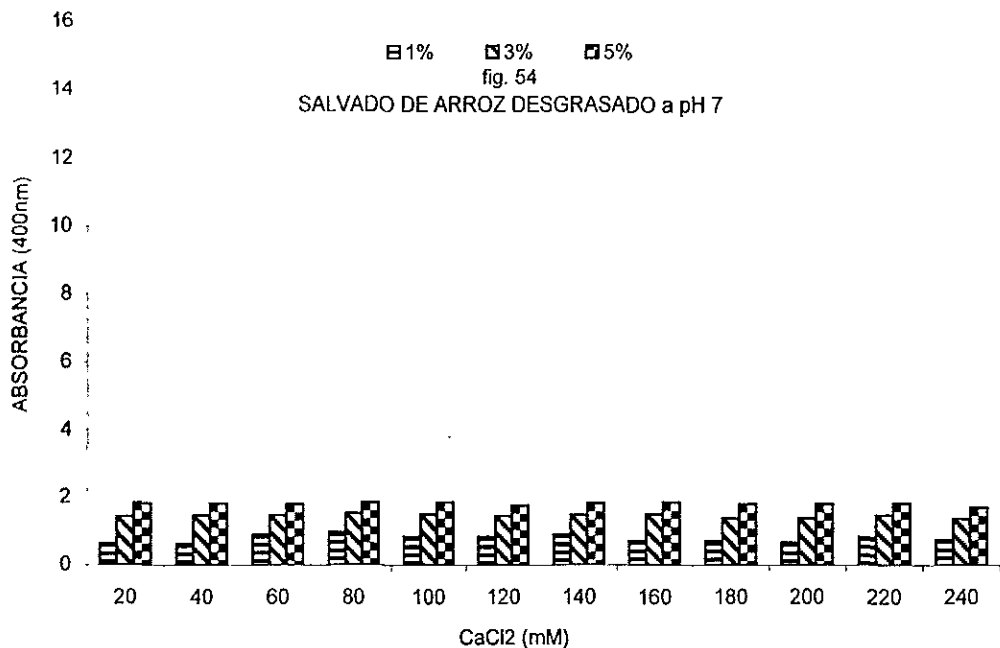
El grado de agregación a pH de 4 es muy bajo referente al salvado desgrasado, el concentrado proteico no presentó agregación a este pH, por tal motivo no hay gráfica correspondiente; se observa que la máxima agregación se presenta al 5% de proteína con 140 mM de cloruro de calcio. Al respecto, los aislados comerciales de soya (PROFAM 981 y ARDEX F) su agregación es casi nula con respecto al PROFAM 646 que es el que muestra resultados más elevados observándose la máxima agregación al 9% de proteína con 160 mM de cloruro de calcio.

El grado de agregación que alcanza el concentrado proteico a pH 7 es altamente significativo comparándolo con los aislados comerciales y aun con el salvado desgrasado. El concentrado proteico presenta su valor máximo de agregación con 5% de proteína y 160 mM de cloruro de calcio, este valor es muy elevado; los aislados comerciales presentan casi los mismos valores para este pH y el salvado desgrasado se coloca en el último lugar para este pH. (VER FIG 50 a 59, TABLAS No. 21 a 25 ANEXO I).

fig. 50  
SALVADO DE ARROZ DESGRASADO a pH 4







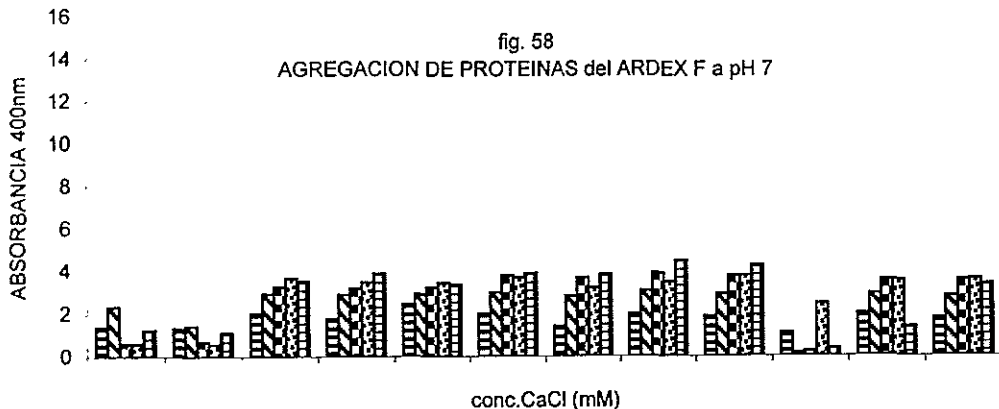
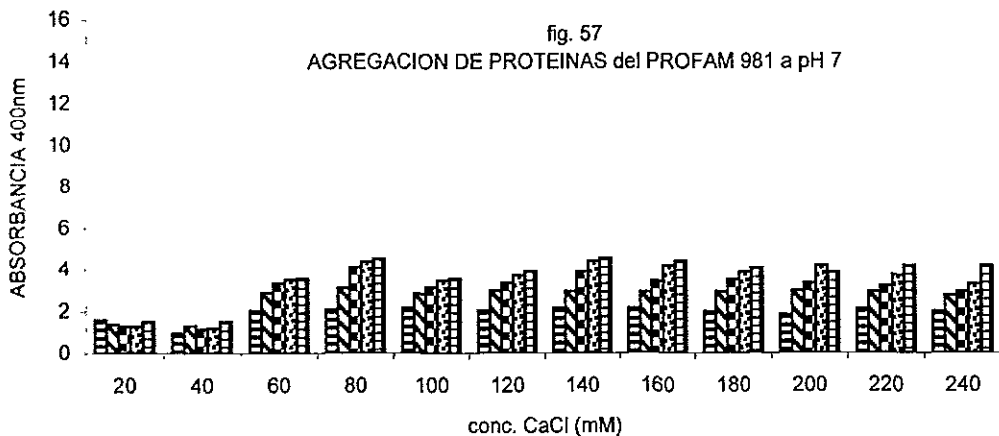
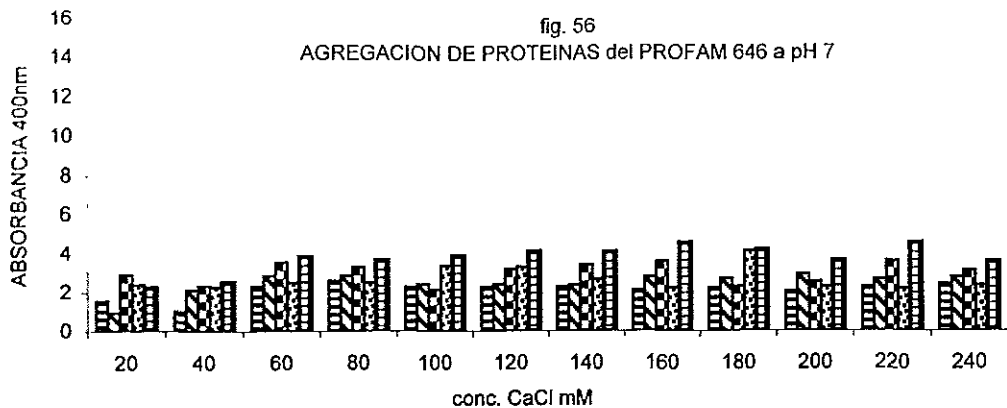


FIG 50 51 52. 53 54 55. 56 57 y 58  
AGREGACION ORDENADA DE PROTEINAS  
Suspensiones a 1 3 5 7 y 9% de proteína  
Determinación de proteína soluble por el metodo de Lowry-SDS  
Absorbancia a 400nm



### 3 4 8 COAGULACIÓN DE PROTEÍNAS.

La coagulación se refiere a una agregación NO ordenada de proteínas, provocada por desnaturalización (tratamiento térmico a 90°C) donde predominan las interacciones proteína-proteína y disminuyen las de proteína-solvente, esto provoca la formación de un gran coagulo

La coagulación puede ser favorable en algunos sistemas alimenticios proporcionando texturas deseables (como: en quesos, yoghurt, productos para panificación, etc.), sin embargo, en otro tipo de productos (como: sopas en lata, instantáneas, purés de tomate, caldos de pollo, etc.) es requisito que las proteínas presentes no coagulen, ya que en este tipo de alimentos se busca una consistencia fluida y líquida.

Tanto el salvado desgrasado como el concentrado proteico no presentan proteínas coagulables a ninguno de los dos pH's estudiados (4 y 7) lo que representa que las proteínas tienen mas afinidad con el solvente con el cual interactúan (agua destilada a pH 4 y 7) que con ellas mismas

Los aislados de soya presentan coagulación a pH 4 (aproximadamente del 20 al 50% de las proteínas solubles), pero resulta mínima la coagulación a pH de 7 donde la carga neta de las mismas es casi cero y son mas las interacciones proteína-solvente (VER TABLA No. 26).

**TABLA No. 26**

Coagulación\* de las proteínas de las muestras de salvado y aislados de soya

SALVADO DESGRASADO	CONCENTRADO PROTEICO	ARDEX F		PROFAM 646		PROFAM 981				
		pH 4	pH7	pH 4	pH7	pH 4	pH7			
NO HUBO COAGULACION	NO HUBO COAGULACION	1%	30.59	0.00	1%	6.44	0.00	1%	56.76	7.81
		3%	32.05	6.19	3%	4.42	0.00	3%	4.8	4.01
		5%	30.00	6.43	5%	43.75	0.00	5%	4.9	1.56
		7%	21.25	4.63	7%	46.49	30.19	7%	14.82	5.17
		9%	22.66	0.00	9%	49.64	20.34	9%	17.14	2.41

\*Determinada como: g proteína soluble/100 g muestra  
Calculada por el método de Lowry-SDS (VER ANEXO II)

3 4 9 EVALUACIÓN DE LAS MUESTRAS DE SALVADO vs AISLADOS DE SOYA

Con base a los resultados obtenidos se realizó una comparación de los resultados obtenidos para las muestras de salvado de arroz con los de aislados de soya comerciales; esto con el fin de tener una evaluación general de las propiedades funcionales estudiadas y dar un veredicto en cuanto a las propuestas de utilización de las muestras de salvado de arroz.

PRUEBA FUNCIONAL	SALVADO DESGRASAD O	CONCENTRADO PROTEICO	ARDEX F	PROFAM 646	PROFAM 981
Capacidad de absorción de agua (mL agua/100 g muestra)	150	160	600	560	700
<b>CALIFICACIÓN</b>	<b>21.43</b>	<b>22.86</b>	<b>85.71</b>	<b>80</b>	<b>100</b>
Capacidad de absorción de aceite (mL aceite/100 g muestra)	130	80	130	80	110
<b>CALIFICACIÓN</b>	<b>100</b>	<b>61.54</b>	<b>100</b>	<b>61.54</b>	<b>86.62</b>
pH	6.45	7.00	6.76	6.41	7.12
<b>CALIFICACIÓN</b>	<b>92.14</b>	<b>100</b>	<b>96.57</b>	<b>91.57</b>	<b>101.71</b>
HUMECTABILIDAD	REGULAR	EXCELENTE	MALA	BUENA	MALA
<b>CALIFICACIÓN</b>	<b>70.00</b>	<b>100</b>	<b>50.00</b>	<b>80.00</b>	<b>50.00</b>
SOLUBILIDAD vs pH (g prot sol /100 g muestra)					
pH 2	27.76	27.86	51.81	38.11	47.70
<b>CALIFICACIÓN</b>	<b>53.58</b>	<b>53.77</b>	<b>100</b>	<b>73.56</b>	<b>92.07</b>
pH 4	26.87	18.79	18.21	19.67	10.98
<b>CALIFICACIÓN</b>	<b>100</b>	<b>69.93</b>	<b>67.78</b>	<b>73.20</b>	<b>40.86</b>
pH 6	36.69	22.19	40.37	30.92	38.59
<b>CALIFICACIÓN</b>	<b>90.88</b>	<b>54.97</b>	<b>100</b>	<b>76.59</b>	<b>95.59</b>
pH 8	57.04	71.75	64.36	43.62	50.12
<b>CALIFICACIÓN</b>	<b>79.5</b>	<b>100</b>	<b>89.7</b>	<b>60.79</b>	<b>69.85</b>
pH 10	99.65	74.47	65.25	55.79	58.43
<b>CALIFICACIÓN</b>	<b>100</b>	<b>74.73</b>	<b>65.48</b>	<b>55.99</b>	<b>58.64</b>
CAPACIDAD DE ESPUMADO (% de incremento de volumen)					
pH 4					
0.1%	7.14	25	0.0	14.29	107.5
<b>CALIFICACIÓN</b>	<b>6.64</b>	<b>23.26</b>	<b>0.0</b>	<b>13.29</b>	<b>100</b>
0.5%	19.29	50	11.43	20.71	122.5
<b>CALIFICACIÓN</b>	<b>15.75</b>	<b>40.82</b>	<b>9.33</b>	<b>16.91</b>	<b>100</b>
1.0%	32.29	100	35.71	35.71	127.5
<b>CALIFICACIÓN</b>	<b>25.33</b>	<b>78.43</b>	<b>28</b>	<b>28.01</b>	<b>100</b>
5.0%	39.29	100	87.86	39.29	138
<b>CALIFICACIÓN</b>	<b>28.47</b>	<b>72.46</b>	<b>63.67</b>	<b>28.47</b>	<b>100</b>
ESTABILIDAD DE ESPUMA (% incremento de volumen)					
pH 4					
10 min.					
0.1%	4.29	0.0	0.0	4.29	22.86
<b>CALIFICACIÓN</b>	<b>18.77</b>	<b>0.0</b>	<b>0.0</b>	<b>18.77</b>	<b>100</b>
0.5%	8.57	0.0	4.29	8.57	54.3
<b>CALIFICACIÓN</b>	<b>15.78</b>	<b>0.0</b>	<b>7.9</b>	<b>15.78</b>	<b>100</b>

1.0%	21.43	0.0	32.86	21.43	71.43
<b>CALIFICACION</b>	<b>30.0</b>	<b>0.0</b>	<b>46.0</b>	<b>30.0</b>	<b>100</b>
5.0%	7.14	0.0	89.26	7.14	85.71
<b>CALIFICACION</b>	<b>8.0</b>	<b>0.0</b>	<b>100</b>	<b>8.0</b>	<b>96.02</b>
<b>ESTABILIDAD DE ESPUMA</b> (% incremento de volumen) pH 4 2 h					
0.1%	0.0	0.0	0.0	0.0	1.43
<b>CALIFICACION</b>	<b>0.0</b>	<b>0.0</b>	<b>0.0</b>	<b>0.0</b>	<b>100</b>
0.5%	0.0	0.0	2.86	0.0	25.71
<b>CALIFICACION</b>	<b>0.0</b>	<b>0.0</b>	<b>11.12</b>	<b>0.0</b>	<b>100</b>
1.0%	0.0	0.0	5.71	8.57	14.3
<b>CALIFICACION</b>	<b>0.0</b>	<b>0.0</b>	<b>39.93</b>	<b>59.93</b>	<b>100</b>
5.0%	0.0	0.0	28.57	0.0	11.43
<b>CALIFICACION</b>	<b>0.0</b>	<b>0.0</b>	<b>100</b>	<b>0.0</b>	<b>40.01</b>
<b>CAPACIDAD DE ESPUMADO</b> (% incremento de volumen) pH 7					
0.1%	4.29	217	78.57	14.29	127
<b>CALIFICACION</b>	<b>1.98</b>	<b>100</b>	<b>36.21</b>	<b>6.58</b>	<b>58.53</b>
0.5%	16.43	405	123.57	46.43	168
<b>CALIFICACION</b>	<b>4.06</b>	<b>100</b>	<b>30.51</b>	<b>11.46</b>	<b>41.68</b>
1.0%	35	565	131.43	51.43	182
<b>CALIFICACION</b>	<b>6.19</b>	<b>100</b>	<b>23.26</b>	<b>9.10</b>	<b>32.21</b>
5.0%	94.29	565	95.71	60	200
<b>CALIFICACION</b>	<b>16.69</b>	<b>100</b>	<b>16.94</b>	<b>10.62</b>	<b>35.39</b>
<b>ESTABILIDAD DE ESPUMA</b> (% incremento de volumen) pH 7 10 min.					
0.1%	0.0	217	12.86	7.14	70
<b>CALIFICACION</b>	<b>0.0</b>	<b>100</b>	<b>5.93</b>	<b>3.29</b>	<b>32.25</b>
0.5%	7.14	365	114.29	36.43	135.71
<b>CALIFICACION</b>	<b>1.96</b>	<b>100</b>	<b>31.31</b>	<b>9.98</b>	<b>37.18</b>
1.0%	32.14	565	98.57	39.29	150
<b>CALIFICACION</b>	<b>5.68</b>	<b>100</b>	<b>17.45</b>	<b>6.95</b>	<b>26.55</b>
5.0%	73.57	565	90	50.71	178.57
<b>CALIFICACION</b>	<b>13.02</b>	<b>100</b>	<b>15.93</b>	<b>8.98</b>	<b>31.61</b>
<b>ESTABILIDAD DE ESPUMA</b> (% incremento de volumen) pH 7 2 h.					
0.1%	0.0	0.0	1.43	0.0	30
<b>CALIFICACION</b>	<b>0.0</b>	<b>0.0</b>	<b>4.77</b>	<b>0.0</b>	<b>100</b>
0.5%	4.29	85	1.43	5.71	22.86
<b>CALIFICACION</b>	<b>5.05</b>	<b>100</b>	<b>1.68</b>	<b>6.72</b>	<b>26.89</b>
1.0%	16.43	465	14.26	4.29	100
<b>CALIFICACION</b>	<b>3.53</b>	<b>100</b>	<b>3.07</b>	<b>0.92</b>	<b>21.50</b>
5.0%	73.57	465	34.29	44.29	170
<b>CALIFICACION</b>	<b>15.82</b>	<b>100</b>	<b>7.37</b>	<b>9.52</b>	<b>36.56</b>

ESTABILIDAD DE EMULSIÓN pH 4					
0.1%	32.17	0.0	0.0	0.0	0.0
<b>CALIFICACION</b>	<b>32.17</b>	<b>0.0</b>	<b>0.0</b>	<b>0.0</b>	<b>0.0</b>
0.5%	92.41	32.72	0.0	0.0	0.0
<b>CALIFICACION</b>	<b>92.41</b>	<b>32.72</b>	<b>0.0</b>	<b>0.0</b>	<b>0.0</b>
1.0%	100	100	0.0	0.0	0.0
<b>CALIFICACION</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>0.0</b>	<b>0.0</b>	<b>0.0</b>
5.0%	100	100	89.14	0.0	100
<b>CALIFICACION</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>89.14</b>	<b>0.0</b>	<b>100</b>
ESTABILIDAD DE EMULSIÓN pH 7					
0.1%	9.49	49.7	71.78	91.48	100
<b>CALIFICACION</b>	<b>9.49</b>	<b>49.7</b>	<b>71.78</b>	<b>91.48</b>	<b>100</b>
0.5%	100	100	100	100	100
<b>CALIFICACION</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>
1.0%	100	100	100	100	100
<b>CALIFICACION</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>
5.0%	100	100	100	100	100
IAE (m <sup>2</sup> /g) pH 4					
0.1%	6.91	22.77	15.06	37.82	15.76
<b>CALIFICACION</b>	<b>18.27</b>	<b>60.21</b>	<b>39.82</b>	<b>100</b>	<b>41.67</b>
0.5%	4.45	13.61	2.85	19.33	2.95
<b>CALIFICACION</b>	<b>23.02</b>	<b>70.41</b>	<b>14.74</b>	<b>100</b>	<b>15.26</b>
1.0%	3.64	9.40	2.36	5.97	6.46
<b>CALIFICACION</b>	<b>38.72</b>	<b>100</b>	<b>25.11</b>	<b>63.51</b>	<b>68.72</b>
5.0%	3.64	9.40	1.52	1.33	1.46
<b>CALIFICACION</b>	<b>38.72</b>	<b>100</b>	<b>16.17</b>	<b>14.15</b>	<b>15.53</b>
IAE (m <sup>2</sup> /g) pH 7					
0.1%	47.44	59.88	53.29	53.02	86.43
<b>CALIFICACION</b>	<b>54.87</b>	<b>69.28</b>	<b>61.66</b>	<b>61.34</b>	<b>100</b>
0.5%	22.02	27.48	30.92	49.32	47.26
<b>CALIFICACION</b>	<b>44.65</b>	<b>55.72</b>	<b>62.70</b>	<b>100</b>	<b>95.82</b>
1.0%	2.27	17.34	26.54	33.33	25.79
<b>CALIFICACION</b>	<b>6.81</b>	<b>52.03</b>	<b>79.63</b>	<b>100</b>	<b>77.38</b>
5.0%	2.27	17.34	7.88	10.99	8.09
<b>CALIFICACION</b>	<b>13.09</b>	<b>100</b>	<b>45.44</b>	<b>63.38</b>	<b>46.66</b>

AGREGACIÓN ORDENADA* (absorbancia a 400nm) pH 4					
1%	0.099	0.0	0.05	0.28	0.03
<b>CALIFICACION</b>	<b>35.36</b>	<b>0.0</b>	<b>17.86</b>	<b>100</b>	<b>10.71</b>
3%	0.325	0.0	0.18	0.29	0.04
<b>CALIFICACION</b>	<b>100</b>	<b>0.0</b>	<b>55.38</b>	<b>89.23</b>	<b>12.31</b>
5%	0.563	0.0	0.14	0.37	0.05
<b>CALIFICACION</b>	<b>100</b>	<b>0.0</b>	<b>24.87</b>	<b>65.72</b>	<b>8.88</b>
AGREGACIÓN ORDENADA* (absorbancia a 400nm) pH 7					
1%	0.972	5.796	2.45	2.60	2.14
<b>CALIFICACION</b>	<b>16.77</b>	<b>100</b>	<b>42.27</b>	<b>44.86</b>	<b>36.92</b>
3%	1.54	7.475	3.07	2.90	2.96
<b>CALIFICACION</b>	<b>20.60</b>	<b>100</b>	<b>41.07</b>	<b>38.79</b>	<b>39.59</b>
5%	1.86	15.2	3.89	3.59	4.10
<b>CALIFICACION</b>	<b>12.24</b>	<b>100</b>	<b>25.59</b>	<b>23.62</b>	<b>26.97</b>

\* Para agregación se tomo el dato más grande a cada % de proteína independientemente de la concentración de CaCl<sub>2</sub>

De la evaluación anterior se desprende que para la capacidad de absorción de agua las muestras de salvado de arroz se encuentran muy por debajo del valor máximo mostrado por PROFAM 981, debido a que las calificaciones obtenidas se encuentran entre 21 y 22. Con respecto a la capacidad de absorción de aceite la muestra de salvado desgrasado muestra el valor máximo al igual que ARDEX F dándole una calificación a ambas de 100, por otro lado el concentrado proteico de salvado muestra una disminución en esta propiedad, igualando su valor al que presenta PROFAM 646; en general podemos decir que nuestras muestras compiten en esta propiedad con los aislados comerciales.

En cuanto al pH las muestras en general se encuentran casi en el mismo rango, observándose que PROFAM 981 es la muestra más básica y el salvado desgrasado y el PROFAM 646 son las muestras más ácidas

La humectabilidad del concentrado de salvado presenta las mejores características de todas las muestras con 100 de calificación en la evaluación, los aislados muestran 50 de calificación (PROFAM 981 y ARDEX F).

Con respecto a la solubilidad, el salvado desgrasado presenta una similitud en esta propiedad con respecto al ARDEX F, siendo la muestra de aislado más soluble, el concentrado proteico de salvado es soluble pero en menor proporción que los ya mencionados. Los aislados de soya PROFAM 981 Y 646

presentan la menor solubilidad de todas las muestras. Y debido a que el Ardex F es utilizado en la elaboración de bebida, *al salvado de arroz podemos catalogarle como apto para bebidas*

Es evidente la capacidad y estabilidad de espuma que presenta el PROFAM 981 a pH 4 siendo la mejor, mientras que el salvado desgrasado se compara en valores al PROFAM 646 *pero por debajo de este*; finalmente, el concentrado proteico no presenta estabilidad de espuma a este pH.

A pH 7 la mejor capacidad y estabilidad de espuma la presenta el concentrado proteico de salvado, el cual tiene valores muy por arriba de las demás muestras; el salvado desgrasado y ARDEX F siguen este comportamiento con datos por abajo. Lo cual lo coloca como un excelente agente espumante.

El 100% de estabilidad de emulsión a pH de 4 de las muestras de salvado se observa desde el 1% de proteína, mientras que los aislados de soya muestran a 5% una estabilidad del 89 y 100% para ARDEX F y PROFAM 981 *respectivamente*; PROFAM 646 no es estable a ninguna concentración de proteína

A pH 7 la mejor estabilidad de emulsión la presenta el PROFAM 981 dando valores de 100% desde 0.15 de proteína, las muestras de salvado de arroz son estables en un *100% al 0.5% de proteína*. Por lo que al comparar el aislado proteico de arroz con los de soya podemos sugerir su utilización en la industria de cárnicos, con la reserva de tratar de mejorar su absorción de agua.

Referente a agregación ordenada, el salvado desgrasado presenta una mejor agregación a pH 4 siguiendo en orden decreciente PROFAM 646, ARDEX F y PROFAM 981. El concentrado proteico de salvado no presenta agregación a este pH.

A pH de 7 las propiedades de agregación ordenada mejoran notablemente en el concentrado proteico *siendo la que tiene la calificación de 100 a casi todas las concentraciones de proteína*; los aislados comerciales al igual que el salvado desgrasado presentan valores muy similares entre ellas pero muy por debajo de los resultados obtenido para el concentrado proteico. Esta propiedad funcional ubica al concentrado proteico con altas posibilidades de ser un agente gelificante, lo cual lo sigue ubicando en el mercado para productos cárnicos.

## CAPÍTULO IV

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

El salvado de arroz del tipo *Milagro-Filipino* presenta una cantidad considerable de proteína (13.86%), lo cual lo hace un producto de interés para su estudio en cuanto al contenido proteico.

El proceso de homogeneización y desgrasado del salvado de arroz facilita la conservación del mismo por la eliminación de ácidos grasos, además de que se permite una buena manipulación para la extracción de las proteínas; este procedimiento concentra 1.3 veces el contenido proteico del salvado de arroz nativo.

Las proteínas solubles del salvado de arroz presentan una buena solubilidad a pH de 10 y además en este valor se observa el menor daño ó desnaturalización de las mismas.

La concentración de las proteínas solubles mediante el secado por liofilización resultó un método adecuado para la obtención de la mayoría de las proteínas presentes.

El salvado de arroz desgrasado y homogeneizado presenta propiedades funcionales interesantes como: absorción de aceite, solubilidad a pH's alcalinos y estabilidad de emulsión e índice de actividad emulsificante; estos valores igualan y en la mayoría de los casos superan los alcanzados por los aislados de soya comerciales.

El concentrado proteico de salvado supera los resultados obtenidos de algunas de las propiedades funcionales encontradas en el salvado desgrasado y homogeneizado como son: humectabilidad, estabilidad de emulsión, agregación ordenada de proteínas, capacidad y estabilidad de la espuma. En otros casos estas propiedades se vieron reducidas: solubilidad, absorción de agua y de aceite.

El método propuesto para concentrar las proteínas del salvado de arroz permite la recuperación del material proteico presente en el salvado de arroz en términos cuantitativos y cualitativos aceptables dando como resultados características funcionales deseables para su utilización como aditivos en algunos productos alimenticios procesados.

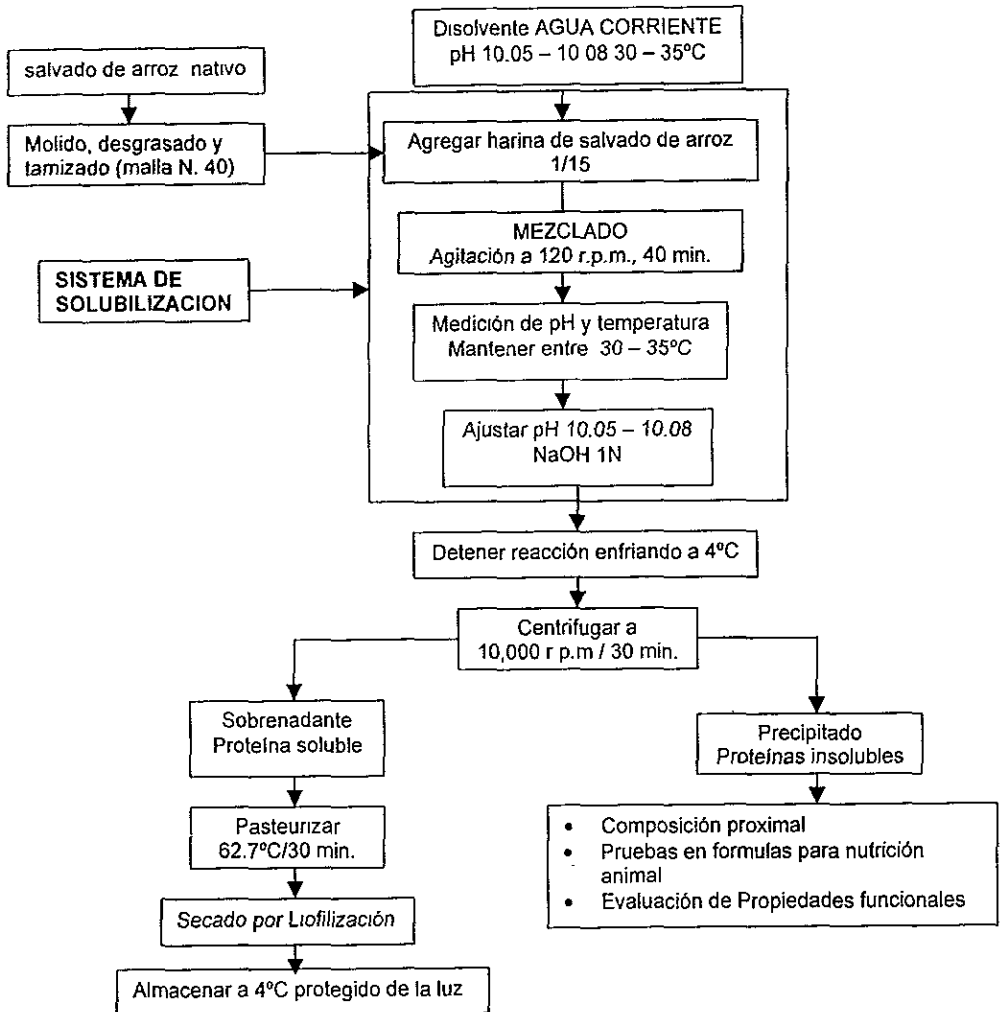
Basándonos en los resultados obtenidos de propiedades funcionales se sugiere el uso de las proteínas del salvado de arroz como un aditivo del tipo surfactante y espumante para su utilización en productos de repostería y confitería; además de que su utilización se puede ampliar en la formulación de bebidas preparadas en polvo por su excelente humectación.

Se recomienda implementar a nivel piloto el método de extracción y concentración de las proteínas (Diagrama 3) para evaluar rendimiento y costos.

El presente trabajo queda como referencia para estudios posteriores de aplicación y uso de las proteínas del salvado de arroz y sus propiedades funcionales para su utilización en alimentos.



DIAGRAMA 3  
PROPUESTA PARA LA EXTRACCIÓN DE PROTEÍNAS DEL SALVADO DE ARROZ



**ANEXO I**  
**TABLAS DE RESULTADOS**

Tabla No. 1  
Granulometría del salvado de arroz nativo  
Peso inicial: 100 g

TAMIZ (micras)	g retenidos por malla	% SOLIDOS
600	24.63	27.42
425	12.38	13.78
300	15.42	17.17
250	9.75	10.85
180	13.91	15.49
150	4.25	4.73
125	4.72	5.25
106	2.11	2.35
RESIDUAL	2.66	2.96

Perdidas: 10.17 g

Tabla No. 2  
Solubilidad vs pH

pH	SALVADO DESGRASADO	CONCENTRADO PROTEICO	ARDEX F	PROFAM 646	PROFAM 981
2	27.76	27.86	51.81	38.11	47.70
4	26.87	18.79	18.21	19.67	10.98
6	36.69	22.19	40.37	30.92	38.59
8	57.04	71.75	64.56	43.62	50.12
10	99.65	74.47	65.25	55.79	58.43

Tabla No.3  
Capacidad de espumado a pH 4

% PROTEINA	SALVADO DESGRASADO	CONCENTRADO PROTEICO	ARDEX F	PROFAM 646	PROFAM 981
0.1	7.14	25	0.0	14.29	107.5
0.5	19.29	50	11.43	20.71	122.5
1.0	32.29	100	35.71	35.71	127.5
5.0	39.29	100	87.86	39.29	138

Tabla No. 4  
Capacidad de espumado a pH 7

% PROTEINA	SALVADO DESGRASADO	CONCENTRADO PROTEICO	ARDEX F	PROFAM 646	PROFAM 981
0.1	4.29	217	78.57	14.29	127
0.5	16.43	405	123.57	46.43	168
1.0	35	565	131.43	51.43	182
5.0	94.29	565	95.71	60	200

Tabla No. 5  
Estabilidad de la espuma a pH 4  
SALVADO DESGRASADO

TIEMPO (min.)	CONCENTRACION DE PROTEINA (%)			
	0.1	0.5	1.0	5.0
1	7.14	19.29	32.29	39.29
10	4.29	8.57	21.43	7.14
30	1.43	5.71	10.71	5
60	0.0	4.29	10	10
120	0.0	0.0	0.0	0.0

Tabla No. 6  
Estabilidad de la espuma a pH 4  
ARDEX F

TIEMPO (min)	CONCENTRACION DE PROTEINA (%)			
	0.1	0.5	1.0	5.0
1	0.0	10.31	35.0	86.43
10	0.0	4.29	32.86	89.26
30	0.0	2.86	14.29	88.57
60	0.0	2.86	10.0	81.43
120	0.0	2.86	5.71	28.57

Tabla No. 7  
Estabilidad de la espuma a pH 4  
PROFAM 646

TIEMPO (min.)	CONCENTRACION DE PROTEINA (%)			
	0.1	0.5	1.0	5.0
1	7.14	19.29	34.29	39.29
10	4.29	8.57	21.43	7.14
30	1.43	5.71	10.71	5.0
60	0.0	2.86	10.0	2.86
120	0.0	0.0	8.57	0.0

Tabla No. 8  
Estabilidad de la espuma a pH 4  
PROFAM 981

TIEMPO (min.)	CONCENTRACION DE PROTEINA (%)			
	0.1	0.5	1.0	5.0
1	42.86	71	77.14	91.43
10	22.86	54.3	71.43	85.71
30	10.0	32.14	37.14	68.57
60	5.71	30.0	24.3	34.3
120	1.43	25.71	14.3	11.43

Tabla No 9  
Estabilidad de la espuma a pH 7  
SALVADO DESGRASADO

TIEMPO (min)	CONCENTRACION DE PROTEINA (%)			
	0.1	0.5	1.0	5.0
1	2.86	16.43	35	94.59
10	0.0	7.14	32.14	73.57
30	0.0	7.14	19.29	73.57
60	0.0	4.29	16.43	73.57
120	0.0	4.29	16.43	73.57

Tabla No. 10  
Estabilidad de la espuma a pH 7  
CONCENTRADO PROTEICO

TIEMPO (min.)	CONCENTRACION DE PROTEINA (%)			
	0.1	0.5	1.0	5.0
1	217	405	565	565
10	217	365	565	565
30	67.5	360	565	565
60	42.5	335	565	565
120	0	85	465	465

Tabla No. 11  
Estabilidad de la espuma a pH 7  
ARDEX F

TIEMPO (min.)	CONCENTRACION DE PROTEINA (%)			
	0.1	0.5	1.0	5.0
1	78.57	123.57	130.71	94.29
10	2.86	114.29	98.57	90.0
30	2.86	50.0	14.26	84.28
60	1.43	85.7	14.26	35.71
120	1.43	1.43	14.26	34.29

Tabla No. 12  
Estabilidad de la espuma a pH 7  
PROFAM 646

TIEMPO (min)	CONCENTRACION DE PROTEINA (%)			
	0.1	0.5	1.0	5.0
1	14.29	41.43	45.71	57.14
10	7.14	36.43	39.29	50.71
30	0.0	32.86	34.29	48.57
60	0.0	12.14	18.57	47.14
120	0.0	5.71	4.29	44.29

Tabla No. 13  
Estabilidad de la espuma a pH 7  
PROFAM 981

TIEMPO (min)	CONCENTRACIÓN DE PROTEÍNA (%)			
	0.1	0.5	1.0	5.0
1	75.71	138.71	157.14	181.43
10	70	135.71	150.0	178.57
30	68.57	132.86	148.57	175.7
60	57.14	31.43	142.85	170.0
120	30.0	22.86	100.0	170.0

Tabla No. 14  
Estabilidad de Emulsión a pH 4

% PROTEÍNA	SALVADO DESGRASADO	CONCENTRADO PROTEICO	ARDEX F	PROFAM 646	PROFAM 981
0.1	32.17	0.0	0.0	0.0	0.0
0.5	92.41	32.72	0.0	0.0	0.0
1.0	100	100	0.0	0.0	0.0
5.0	100	100	89.14	0.0	100

Tabla No. 15  
Estabilidad de Emulsión a pH 7

% PROTEÍNA	SALVADO DESGRASADO	CONCENTRADO PROTEICO	ARDEX F	PROFAM 646	PROFAM 981
0.1	9.49	49.7	71.78	91.48	100
0.5	100	100	100	100	100
1.0	100	100	100	100	100
5.0	100	100	100	100	100

Tabla No. 16  
IAE (índice de actividad emulsificante)  
SALVADO DESGRASADO

% PROTEÍNA	pH 4		pH 7	
	IAE (m <sup>2</sup> /g)	% TURBIDEZ	IAE (m <sup>2</sup> /g)	% TURBIDEZ
0.1	6.91	2.26	47.44	23.72
0.5	4.45	17.27	22.02	55.04
1.0	3.64	18.19	2.27	56.77
5.0	3.64	18.19	2.27	56.77

Tabla No. 17  
IAE (índice de actividad emulsificante)  
CONCENTRADO PROTEICO

% PROTEINA	pH 4		pH 7	
	IAE (m <sup>2</sup> /g)	% TURBIDEZ	IAE (m <sup>2</sup> /g)	% TURBIDEZ
0.1	22.77	6.83	59.878	16.66
0.5	13.61	20.42	27.48	41.53
1.0	9.39	31.21	17.34	53.35
5.0	9.39	31.21	17.34	53.35

Tabla No. 18  
IAE (índice de actividad emulsificante)  
ARDEX F

% PROTEINA	pH 4		pH 7	
	IAE (m <sup>2</sup> /g)	% TURBIDEZ	IAE (m <sup>2</sup> /g)	% TURBIDEZ
0.1	15.06	3.27	53.29	11.57
0.5	2.85	3.09	30.92	33.57
1.0	2.36	5.13	56.54	57.61
5.0	1.52	16.54	7.80	85.84

Tabla No. 19  
IAE (índice de actividad emulsificante)  
PROFAM 646

% PROTEINA	pH 4		pH 7	
	IAE (m <sup>2</sup> /g)	% TURBIDEZ	IAE (m <sup>2</sup> /g)	% TURBIDEZ
0.1	37.82	8.21	53.02	11.51
0.5	19.33	30.90	49.32	53.54
1.0	5.97	12.97	33.33	72.37
5.0	1.33	14.85	10.99	119.29

Tabla No. 20  
IAE (índice de actividad emulsificante)  
PROFAM 981

% PROTEINA	pH 4		pH 7	
	IAE (m <sup>2</sup> /g)	% TURBIDEZ	IAE (m <sup>2</sup> /g)	% TURBIDEZ
0.1	15.76	3.85	83.43	21.11
0.5	2.95	3.61	47.26	57.20
1.0	6.46	15.78	25.79	63.00
5.0	1.46	17.81	8.09	98.80

Tabla No 21  
 Agregación de proteínas  
 SALVADO DESGRASADO

CaCl <sub>2</sub> mM	CONCENTRACIÓN DE PROTEÍNA (%)					
	pH 4			pH 7		
	1.0	3.0	5.0	1.0	3.0	5.0
20	0.086	0.325	0.371	0.641	1.44	1.84
40	0.099	0.313	0.32	0.626	1.47	1.82
60	0.067	0.217	0.454	0.904	1.48	1.8
80	0.063	0.269	0.421	0.972	1.54	1.86
100	0.081	0.291	0.391	0.844	1.51	1.86
120	0.053	0.245	0.396	0.836	1.46	1.76
140	0.098	0.279	0.563	0.912	1.49	1.82
160	0.06	0.27	0.397	0.728	1.52	1.86
180	0.051	0.194	0.421	0.702	1.38	1.8
200	0.037	0.251	0.347	0.658	1.39	1.8
220	0.068	0.248	0.383	0.828	1.49	1.84
240	0.059	0.211	0.36	0.756	1.38	1.7

Tabla No 22  
 Agregación de proteínas  
 CONCENTRADO PROTEICO

CaCl <sub>2</sub> mM	CONCENTRACIÓN DE PROTEÍNA (%)		
	pH 7		
	1.0	3.0	5.0
20	5.796	6.338	9.681
40	2.505	6.1	12.215
60	2.616	6.988	12.81
80	2.43	7.475	12.985
100	2.58	7.2	11.935
120	2.475	6.988	11.76
140	2.511	6.813	12.425
160	2.493	6.95	15.2
180	1.682	6.75	13.84
200	2.334	6.513	14.2
220	1.968	6.5	14.96
240	1.802	6.225	12.48

Tabla No. 23  
Agregación de proteínas  
ARDEX F

CaCl <sub>2</sub> mM	CONCENTRACIÓN DE PROTEÍNA (%)									
	pH 4					pH 7				
	1.0	3.0	5.0	7.0	9.0	1.0	3.0	5.0	7.0	9.0
20	0.03	0.09	0.05	0.04	0.90	1.39	2.34	0.62	0.60	1.24
40	0.03	0.13	0.05	0.21	0.79	1.32	1.44	0.71	0.57	1.11
60	0.03	0.10	0.06	0.11	0.29	2.02	2.94	3.26	3.66	3.51
80	0.02	0.13	0.05	0.05	0.25	1.78	2.90	3.20	3.47	3.88
100	0.01	0.12	0.08	0.15	0.20	2.45	2.92	3.24	3.44	3.36
120	0.02	0.15	0.08	0.14	0.31	2.01	3.01	3.79	3.69	3.89
140	0.02	0.17	0.06	0.16	0.47	1.40	2.82	3.68	3.21	3.82
160	0.04	0.15	0.08	0.19	0.28	1.98	3.07	3.89	3.49	4.50
180	0.05	0.18	0.14	0.26	0.29	1.87	2.93	3.79	3.79	4.27
200	0.04	0.10	0.05	0.13	0.81	1.09	0.14	0.22	2.44	0.339
220	0.04	0.10	0.08	0.11	0.90	1.99	2.93	3.56	3.56	4.38
240	0.28	0.16	0.08	0.23	0.81	1.78	2.83	3.59	3.63	3.37

Tabla No. 24  
Agregación de proteínas  
PROFAM 646

CaCl <sub>2</sub> mM	CONCENTRACIÓN DE PROTEÍNA (%)									
	pH 4					pH 7				
	1.0	3.0	5.0	7.0	9.0	1.0	3.0	5.0	7.0	9.0
20	0.12	0.29	0.31	0.28	3.36	1.55	0.97	2.93	2.40	2.24
40	0.08	0.18	0.20	0.25	3.066	1.03	2.13	2.35	2.29	2.51
60	0.04	0.12	0.28	0.25	2.31	2.30	2.87	3.55	2.52	3.83
80	0.03	0.15	0.15	0.27	2.37	2.60	2.85	3.28	2.50	3.62
100	0.01	0.14	0.28	0.27	2.03	2.26	2.41	2.15	3.34	3.84
120	0.03	0.15	0.12	0.34	2.42	2.28	2.41	3.18	3.29	4.06
140	0.24	0.13	0.23	0.25	2.30	2.28	2.37	3.39	2.67	4.04
160	0.02	0.12	0.27	0.24	2.52	2.11	2.78	3.59	2.23	4.5
180	0.07	0.09	0.26	0.19	2.28	2.22	2.70	2.29	4.11	4.15
200	0.09	0.14	0.22	0.34	2.44	2.04	2.90	2.53	2.27	3.59
220	0.04	0.10	0.08	0.11	3.31	2.25	2.64	3.59	2.20	4.5
240	0.28	0.28	0.37	0.34	3.07	2.40	2.76	3.09	2.34	3.52



Tabla No. 25  
Agregación de proteínas  
PROFAM 981

CaCl <sub>2</sub> mM	CONCENTRACIÓN DE PROTEÍNA (%)									
	pH 4					PH 7				
	1.0	3.0	5.0	7.0	9.0	1.0	3.0	5.0	7.0	9.0
20	0.02	0.03	0.04	0.09	0.18	1.60	1.37	1.28	1.29	1.51
40	0.00	0.03	0.03	0.12	0.16	0.94	1.32	1.15	1.20	1.51
60	0.03	0.04	0.04	0.12	0.21	2.04	2.87	3.32	3.48	3.52
80	0.02	0.02	0.05	0.09	0.12	2.09	3.10	4.10	4.38	4.5
100	0.01	0.02	0.04	0.11	0.17	2.14	2.82	3.12	3.44	3.52
120	0.02	0.02	0.04	0.12	0.40	2.03	2.96	3.34	3.68	3.88
140	0.01	0.01	0.2	0.09	0.15	2.13	2.92	3.88	4.38	4.50
160	0.00	0.02	0.02	0.09	0.17	2.13	2.90	3.42	4.16	4.38
180	0.00	0.02	0.03	0.12	0.17	1.98	2.91	3.49	3.85	4.05
200	0.01	0.03	0.05	0.14	0.18	1.82	2.95	3.30	4.16	3.84
220	0.00	0.03	0.04	0.12	0.24	2.10	2.89	3.16	3.69	4.16
240	0.03	0.04	0.04	0.13	0.19	1.99	2.74	2.90	3.25	4.15

**ANEXO II**  
**TÉCNICAS DE PROPIEDADES FUNCIONALES**

**SOLUBILIZACIÓN DE PROTEÍNAS**  
Popineau, Bollecker y Thebaudin, 1988

Pesar los gramos de proteína necesarios para tener una suspensión al 1% de proteína

Agregar 25mL de H<sub>2</sub>O al pH (2,4,6,8,10) a Temperatura de 35 – 40°C

Agitar con magneto durante 15 min

Checar y ajustar el pH

Aforar a 30mL en probeta (volumen final)

Dejar 30 min. agitando con magneto

Dejar reposar a 4°C/1 h, registrar el pH final

En tubos de 50mL centrifugar a 10,000 rpmX30 min. a 4°C

Colectar el sobrenadante y determinar proteína por el método de Lowry-SDS

Graficar la concentración de proteína soluble en porcentaje o µg/mL vs. pH

\* Popineau Y., Bollecker S., Thebaudin J.Y., 1988, CARACTÉRISATION BIOCHIMIQUE ET FONCTIONNELLE DES PROTÉINS DE GLUTEN DÉSAMIDÉES PARTIELLEMENT EN CONDITIONS MÉNAGÉES, Sciences des aliments, 8(4), 411 - 430

**DETERMINACIÓN DE PROTEÍNAS POR EL MÉTODO DE LOWRY MODIFICADO**  
Peterson G L., 1977

**CURVA PATRÓN**

- Pesar la cantidad en g de Albúmina Sérica Bovina (ASB) para tener una concentración de 1 mg/mL
- Para hacer la curva patrón, la solución estándar de proteína debe tener 0.1 mg/mL.
- Se debe realizar una dilución 1:10.
- Para una serie de 10 tubos se necesitan 6 mL de la solución de ASB con una concentración de 0.1 mg/mL.
- Se realiza por duplicado por lo tanto se necesitan 12 mL de la solución de ASB a una concentración de 0.1 mg/mL.

Esta dilución se prepara antes de iniciar la técnica.

Construcción de la curva patrón

No. tubo	H <sub>2</sub> O dest. (mL)	Soluc. ASB (0.1 mg/mL)	Vol. final C/tubo (mL)	Conc Proteína en c/tubo (µg/mL)
1	1	0	1	Blanco
2	0.9	0.1	1	10
3	0.8	0.2	"	20
4	0.7	0.3	"	30
5	0.6	0.4	"	40
6	0.5	0.5	"	50
7	0.4	0.6	"	60
8	0.3	0.7	"	70
9	0.2	0.8	"	80
10	0.1	0.9	1	90
11	0	1.0	1	100

## PREPARACION DE REACTIVOS

i) Solución de CTC (carbonato de sodio, tartrato de potasio y sulfato de cobre.5H<sub>2</sub>O).

Concentraciones finales:

Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	10%
CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	0.1%
Tartrato de K	0.2%

ii) Solución de NaOH 0.8N PM 40

iii) Solución SDS al 10%: pesar 10 g de SDS y aforar a 100 mL

SOLUCIÓN A: Se mezclan volúmenes iguales de las siguientes soluciones y en el mismo orden: CTC, NaOH y SDS

La solución A se prepara momentos antes de empezar la técnica.

SOLUCIÓN B: Reactivo Folin-Ciocalteu-fenol (marca Sigma), hacer una dilución 1:6, se prepara antes de desarrollar la determinación.

1 volumen de reactivo + 5 volúmenes de H<sub>2</sub>O destilada

Desarrollo:

- Se prepara una curva patrón con ASB, cada vez que se termine el reactivo CTC o bien ya este viejo aproximadamente 3 meses (es el mas inestable)
- Las muestras problema deberán tenerse en un volumen de 1 mL, en caso de que los valores de absorbancia sean muy elevados, por tener alta concentración de proteína y, no entren en la curva patrón, se tendrá que realizar una dilución hasta que se logre la determinación.
- Entonces se tendrá 1 mL de solución de proteína, tanto en la curva patrón como en las muestras problema
- Con agitación continua (vortex), se le va agregar a cada tubo 1 mL de la solución A y se deja reposar 10 min. a T°C ambiente.
- Al termino de los 10 min., se les agrega a cada tubo 0.5 mL de la solución B con agitación continua y se deja desarrollar la reacción durante 30 min.
- Después de los 30 min., se lee absorbancia a 750 nm. La reacción es estable hasta los 120 min. de iniciada esta
- Peterson G.L., 1977, "A SIMPLIFICATION OF THE PROTEIN ASSAY METHOD OF LOWRY ET. AL. WHICH IS MORE GENERALLY APPLICABLE". *Anal Biochem.*, 83:346.

**DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD DE ABSORCIÓN DE AGUA Y ACEITE**  
Quinn y Paton, 1979

Tomar 1 g de muestra, en este caso salvado de arroz

Se coloca en tubos cónicos graduados de 15 mL (Nalgene), con 1 mL de H<sub>2</sub>O o aceite.

El tubo con la muestra y el mL de H<sub>2</sub>O o aceite se va humedeciendo con una cantidad suficiente de H<sub>2</sub>O o aceite para hacer una pasta.

La operación se repite para cada tubo aumentando el volumen cada vez en 0.5 mL, el último tubo tendrá entonces una pasta muy húmeda

Estas suspensiones se someten a centrifugación a 2000 r.p.m. durante 10 min. (Centrifuga clínica Solbat).

Medir el exudado formado en cada tubo con la graduación del mismo, observar el tubo en el cual se localiza el menor exudado (película muy ligera de líquido).

Este valor se afina repitiendo el experimento, con volúmenes de líquido (H<sub>2</sub>O o aceite) que permitan encuadrar este valor.

La capacidad de retención de H<sub>2</sub>O o aceite se define como la cantidad de agua o aceite retenida por gramo de muestra en estas condiciones

**IMPORTANTE:** poner el líquido + salvado de arroz y no en forma contraria.

- Quinn J.R. and Paton D., 1979, A PRACTICAL MEASUREMENT OF WATER HYDRATION CAPACITY OF PROTEIN MATERIALS, *Cereal Chem.*, 56:38.

## HUMECTABILIDAD

Balmaceda E.A., 1984

Se pesan 1 a 2 g de muestra

Colocar en un vaso de precipitado que contenga un agitador magnético 80 mL de H<sub>2</sub>O destilada.

Transferir la muestra colada lentamente en el vaso con H<sub>2</sub>O sin agitar

Observar como se humedece la muestra en la interfase inmediatamente después de ser adicionada.

Dejar reposar 30 min.

Agitar la muestra lo suficientemente fuerte para formar un vortex en el vaso durante 60 seg.

El grado de humectación se evalúa como sigue:

- a) Excelente: la muestra se humecta tan pronto como se pone en contacto con el agua. Después de media hora la muestra se dispersa completamente.
- b) Buena: la muestra solo se humedece ligeramente cuando se pone en contacto con agua. Después de media hora, la muestra esta húmeda y tiene una zanja en la base. La agitación dispersa la muestra.
- c) Regular: la muestra se humedece muy ligeramente al contacto inicial, también tiende a amontonarse y permanecer en la superficie. Después de 30 min la muestra esta todavía en la superficie, a pesar de que algo de ella esta dispersa. La agitación causa que la mayoría de la muestra se disperse, a pesar de que después de agitar hay todavía algunos montones.
- d) Mala: la muestra difícilmente se humedece al contacto inicial. También se amontona. Después de 30 min. la solución esta ligeramente turbia, pero la mayoría de la muestra permanece en montones en la superficie. La agitación no dispersa la muestra. Al terminar de agitar la mayoría de la muestra esta flotando en montones.

- Fligner K.L. and Mangino M.E., 1991, INTERACTIONS OF FOOD PROTEINS, American Chemical Society, Washington D.C., p.1
- Kinsella J.E., 1976, Food Sci and Nutric., 7 (3): 219

**ESTABILIDAD DE EMULSIÓN POR EL  
MÉTODO DE RESISTENCIA A LA COALESCENCIA**  
Dagorn Scaviner Lefevre, 1988

Esta técnica mide el efecto emulsificante de la proteína contra la coalescencia (aceite separado). Se prepara una emulsión por cada muestra.

Preparar soluciones al 0.1, 0.5 y 1.0% de proteína y si hay separación de aceite, aumentar la concentración hasta un 5.0%.

Estas diferentes concentraciones de proteína son con la finalidad de realizar la curva de resistencia a la coalescencia vs. concentración de proteína.

Se pesa la cantidad en g de proteína para tener las concentraciones a estudiar.

Se colocan en matraces Erlenmeyer y se agregan 70 mL de buffer de fosfatos de sodio 0.1 M a pH 7 y de buffer de citratos 0.1M a pH 4 (1 curva para cada pH).

Homogeneizar a 8000 r.p.m (Homogeneizador Janke y Kunke. Ultratrurax TR-25) durante 1 min

Checar y ajustar pH estudiado (4 o 7)

Vaciar el homogeneizado en un matraz aforado o probeta y aforar a 100 mL con el buffer.

Colocar 75 mL de la suspensión de proteína en un vaso de pp. De 250 mL

Agregar 25 mL de aceite de maíz (medido con bureta a velocidad constante).

Homogeneizar a 20,500 r.p.m. durante 2 min.

Inmediatamente vaciar la emulsión en 4 tubos de ensaye volumétricos cónicos, tratando de distribuir homogéneamente la emulsión formada durante la homogeneización.

Balancear los tubos con la emulsión y centrifugar a 3000 r.p.m. durante 10 min. al termino de este tiempo se mide lo siguiente en los tubos:

$V_s$  = volumen de aceite separado

$V_i$  = volumen inicial de aceite en la emulsión (aprox. 2.5 mL)

Volúmen de fase apolar dispersa =  $\text{vol. parcial} / \text{vol total} = 25 / (75+25) = 0.25$

**% de aceite coalescido =  $\text{vol. de aceite coalescido} \times 100 / \text{vol. total tubo} \times 0.25$**

Graficar % de aceite coalescido Vs concentración de proteína.

- **Dagorn-Scaviner D., Gueguen J. and Lefebvre J., 1987, EMULSIFYING PROPERTIES OF PEA GLOBULINS AS RELATED TO THEIR ADSORPTION BEHAVIORS, J. Food Sci., 52:335.**

**ÍNDICE DE ACTIVIDAD EMULSIFICANTE**  
(I.A.E.)  
Pearce and Kinsella, 1978

La actividad emulsificante es medida por el método de Pearce y Kinsella, modificado por Dagorn-Scaviner y cols.(1987).

Preparar una suspensión al 0.1, 0.5 y 1.0% de proteína de cada muestra a evaluar (por duplicado).

Pesar los g de proteína requeridos para cada concentración y agregar 70 mL de buffer de fosfatos de sodio (pH 7) y/o de citratos (pH 4)

Homogeneizar a 8000 r.p.m durante 1 min.

Medir el pH a ajustar (pH 4 y 7)

Vaciar el homogeneizado en un matraz y aforar con el buffer a 100 mL

Colocar 75 mL de la suspensión proteica en un matraz de Erlenmeyer de 200 mL y agregar 25 mL de aceite de maíz (medido con bureta) a velocidad constante.

Homogeneizar en un homogeneizador Janke y Kunkel (ULTRA TURRAX T 25) a 20,500 r.p.m. durante 30 seg.

Realizar la dilución como sigue:

a) se colocan 50 mL de una solución de SDS 0.1% NaCl 0.1M, pH 7 en matraces Erlenmeyer de 125 mL. Tomar 200 $\mu$ L de esta solución y desecharlos.

b) Se toman 200 $\mu$ L del homogeneizado y se agregan al matraz con la solución SDS-NaCl.

Es importante tomar este volumen del fondo de la emulsión y de forma rápida, mezclando con agitación manual entre toma y toma de muestra, y además cambiar la punta de la pipeta cada vez que tome una muestra diferente.

c) Leer las diluciones a 500 nm, realizar 3 lecturas por dilución, enjuagando la celda de vidrio con agua destilada entre cada lectura de una distinta condición.

El blanco es la solución de SDS-NaCl.

- Pearce N.K. and Kinsella J.E., 1978, EMULSIFYING PROPERTIES OF PROTEINS: EVALUATION OF A TURBIDIMETRIC TECHNIQUE, J. Agric. Food Chem., 26:716.



**CAPACIDAD Y ESTABILIDAD DE ESPUMADO**  
Lin M.J.Y. and Humbert E.S., 1974

Realizar una curva de concentración de proteína: 0, 1, 0,5, 1,0 y 5,0%.

Preparar 70 mL de c/u por duplicado.

Pesar en matraz de 200 – 300mL, 60mL de Buffer (pH 4 y 7).

Agitar a 120 r p m a 37°C/1hr (30min checar pH).

Aforar en probeta a 70mL.

Homogeneizar a 20,500 r.p.m /2min (batido).

Vaciar en probeta.

Registrar volumen al momento, 1min, 10min, 30min, 1hr y 2hr.

**%Volumen de Incremento = [(vol. Final – vol. Inicial)/vol. Inicial] X 100**

- Lin M.J.Y. and Humberte E.S., 1974, CERTAIN FUNCTIONAL PROPERTIES OF SUNFLOWER MEAL PRODUCTS, J. Food Sci., 39:368
- Lawhon J.T., Cater C.M. and Mattil K.F., 1972, A WHIPPABLE EXTRACT FROM GLANDELESS COTTONSEED FLOUR, J. Food Sci., 37:317

## GRADO DE AGREGACIÓN DE PROTEÍNAS

Hongsprabhas P. Y Barbut S., 1977.

Preparar suspensiones de proteína al 1,3,5,7 y 9% por duplicado.

El volumen de trabajo final es 50 mL (buffer 7 y 4).

Agregar el buffer correspondiente a  $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$

Agitar 10 min. en placa agitadora a 120 r.p.m. en cuarto a  $35^{\circ}\text{C}$ .

Checar pH y ajustar.

Agitar nuevamente 20 min. a 120 r.p.m. en cuarto a  $35^{\circ}\text{C}$ .

Centrifugar a 10,000 r.p.m./30 min./ $4^{\circ}\text{C}$ .

Calentar el sobrenadante a  $80^{\circ}\text{C}/30$  min.

Enfriar a T. amb/2 h

Mantener a  $4^{\circ}\text{C}$  toda la noche.

Diluir 1:2 (1 mL de sobrenadante + 2 mL solución de  $\text{CaCl}_2$ )

El  $\text{CaCl}_2$  debe estar a  $4^{\circ}\text{C}$ .

Se dejan reaccionar las 2 soluciones mezclando lentamente 3 veces (manualmente) y dejar 30 min. en reposo a  $4^{\circ}\text{C}$ .

Leer en espectrofotómetro Spectronic 21D Milton Roy a 400 nm

Graficar concentración de  $\text{CaCl}_2$  Vs Absorbancia a 400 nm

- Hongsprabhas P. and Barbut S., 1977, PROTEIN AND SALT EFFECTS ON Ca-INDUCED COLD GELATION OF WHEY PROTEIN ISOLATE, J- Food Sci., 62:382.

## COAGULACIÓN DE LAS PROTEÍNAS POR CALOR

Myers D.J. y cols. 1994

Preparar suspensiones de proteína al 1,3,5,7 y 9% por duplicado.

El volumen de trabajo final es 50 mL (buffer 7 y 4).

Agregar el buffer correspondiente a  $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ .

Agitar 10 min en placa agitadora a 120 r.p.m. en cuarto a  $35^{\circ}\text{C}$ .

Checar pH y ajustar.

Agitar nuevamente 20 min a 120 r.p.m. en cuarto a  $35^{\circ}\text{C}$ .

Centrifugar a 10,000 r.p.m./30 min./ $4^{\circ}\text{C}$ .

Tomar 10 mL del sobrenadante y calentar a  $90 - 100^{\circ}\text{C}/20$  min.

Enfriar a temperatura ambiente durante 2 h.

Centrifugar nuevamente a 10,000 r.p.m./30 min./ $4^{\circ}\text{C}$ .

Filtrar el sobrenadante con papel filtro No 2 (velocidad media y retención cristalina).

Hacer la prueba de Lowry-SDS al sobrenadante antes y después de calentar.

Calcular el % de coagulación (%HC) mediante la siguiente formula:

%HC=

$$\mu\text{g prot. sol. antes de } \Delta - \mu\text{g prot. sol. desp. de } \Delta / \mu\text{g prot. sol. antes de } \Delta \times 100$$

- Fligner K.L. and Mangino M.E., 1991, INTERACTIONS OF FOOD PROTEINS, American Chemical Society, Washington D.C., p.1
- Kinsella J.E., 1976, Food Sci and Nutric., 7 (3): 219

**ANEXO III**  
 **AISLADOS COMERCIALES DE SOYA**

**1. PROFAM® 646 (Cárnicos)**

Es un medio de baja viscosidad proteica, el cual es soluble en agua y otros sistemas líquidos. Debido a sus propiedades únicas se presta bien en varios productos cárnicos.

- Datos Microbiológicos
 

Cuenta en placa máx.	30,000UFC/gmuestra
Salmonella (clase II)	NEGATIVO
E. Coli	NEGATIVO
- Análisis Próximo

% HUMEDAD max	6.5
% PROTEÍNA min	90
% GRASA éter de petróleo max.	1
% GRASA hidrólisis ácida max.	4
% CENIZAS max.	5
pH dil 1:10 en agua	6.3 – 6.7
Calorías (por 100 g)	380

- Minerales (mg/gmuestra)

Sodio	1200
Potasio	150
Calcio	100
Fósforo	850
Hierro	15
Magnesio	50

- Tamaño de partícula  
90% a través de malla #100 U.S. Standard Screen
- Empaquetado  
Disponible en 20Kg (peso neto), multiparedes, en bolsas de papel rayado (polylined).
- Almacenamiento  
Almacenado debajo de 75°F y 60% de humedad relativa.

## 2 PROFAM® 981 (Embutidos)

Aislado de soya proteico soluble, producto desarrollado específicamente para su uso en productos industrializados provenientes de aves de corral y carnes rojas así como en sistemas de alimentos donde se requiere una alta funcionalidad de las proteínas.

- Datos Microbiológicos  
Cuenta en placa máx. 30,000UFC/gmuestra  
Salmonella (clase II) NEGATIVO  
E Coli NEGATIVO
- Análisis Próximo

% HUMEDAD max	6.5
% PROTEÍNA min	90
% GRASA éter de petróleo max	1
% GRASA hidrólisis ácida max.	4
% CENIZAS max	5
pH dil. 1:10 en agua	6.8 – 7.3
Calorías (por 100 g)	380

- Minerales (mg/gmuestra)

Sodio	1300
Potasio	150
Calcio	50
Fósforo	850
Hierro	15
Magnesio	25

- Tamaño de partícula  
90% a través de malla #100 U.S. Standard Screen.

- Empaquetado  
Disponibile en 20Kg (peso neto), multiparedes, en bolsas de papel rayado (polylined).

- Almacenamiento  
Almacenado debajo de 75°F y 60% de humedad relativa.

### 3 ARDEX® F

Es un aislado proteico de soya que es producido especialmente para su aplicación en alimentos. Es tanto un emulsificante como un estabilizador de emulsiones. Debido a su bajo perfil de sabor y olor, Ardex®F puede combinarse con productos lácteos dulces donde puede usarse como un sustituto de la leche en polvo libre de grasa, su aplicación puede ampliarse también en productos como la margarina, mantequillas y en confitería. También puede ser utilizado como imitación de productos lácteos típicos, su aplicación nutricional se limita a alimentos infantiles y en salsas.

- Datos Microbiológicos  
Cuenta en placa máx. 30,000UFC/gmuestra  
Salmonella (clase II) NEGATIVO  
E Coli NEGATIVO

- Análisis Próximo

% Humedad máx.	6.5
% Proteína mín.	90
% Grasa (éter de petróleo) máx	1
% Grasa (hidrólisis ácida) máx.	4
% Cenizas máx	5
pH (1:10 en H <sub>2</sub> O)	6.8 -- 7.3
Calorías (por 100 g)	380

- Minerales (mg/gmuestra)

Sodio	1300
Potasio	150
Calcio	100
Fósforo	850
Hierro	15
Magnesio	50

- Tamaño de partícula  
90% a través de malla #100 U.S. Standard Screen

- Empaquetado  
Disponble en 20Kg (peso neto), multiparedes, en bolsas de papel rayado (polylined).

- Almacenamiento  
Almacenado debajo de 75°F y 60% de humedad relativa

NOTA: Estos aislados de soya son productos Kosher.

## BIBLIOGRAFIA

- 1 Aluko, R. E , Yada, R Y., 1995, STRUCTURE-FUNCTION RELATIONSHIPS OF COWPEA (*Vigna unguiculata*) GLOBULIN ISOLATE: INFLUENCE OF pH AND NaCl ON PHYSICOCHEMICAL AND FUNCTIONAL PROPERTIES, Food Chemistry, 53:259-265.
- 2 Angladette, Andre, 1969, EL ARROZ, Colección Agricultura Tropical, Ed. Blume, 1ª Edición, Barcelona, España.
3. Badui, D.S., 1981, QUIMICA DE LOS ALIMENTOS, Ed. Alhambra, 2ª Edición, México, D.F.
- 4 Barber, S, and Benedito, C., and Martínez, J., 1981, PROTEÍNAS DEL SALVADO DE ARROZ, VALOR POTENCIAL DE LAS FRACCIONES DEL SALVADO DE ARROZ COMO INGREDIENTE DE ALIMENTOS PROTEICOS, Rev. Agronómica y Tecnología de Alimentos, 21 (2) 247-258.
- 5 Barber, S., Botey, T, 1972, PROBLEMAS QUE SE PLANTEAN EN LA TIPIFICACION DE LOS SUBPRODUCTOS DEL ARROZ, A.T.A. Vol. 12, No. 1.
6. Benedito, C, Cordero, C.V., and Primo, E., 1986, ESTABILIZACION DEL SALVADO DE ARROZ, EFECTO DEL TRATAMIENTO TERMICO SOBRE LAS PROTEÍNAS, Rev. Agronómica y Tecnología de Alimentos, 26 (3) 398 - 404.
- 7 Bertijn D.J., Salinas K F. y Figueroa M. J., 1993, Manuales para la educación agropecuaria, ARROZ, Ed Trillas, Octava reimpresión, México.
- 8 Bertijn D J, Salinas K. F. y Figueroa M. J., 1993, Manuales para la educación agropecuaria, ELABORACION DE PRODUCTOS AGRICOLAS, Ed. Trillas, Octava reimpresión, México.
9. Casillas, Q V., 1991, OBTENCION DE UN AISLADO PROTEINICO DE AMARANTO Y DESARROLLO DE PRODUCTOS, TESIS, Facultad de Química, UNAM
10. Chen, L , and Houston, D.F., 1970, SOLUBILIZATION AND RECOVERY OF PROTEIN FROM DEFFATED RICE BRAN, Cereal Chemical, 47 (1) 72 -79.
- 11 Chen, C.H., and Bushuk, W., 1970, NATURE OF PROTEINS IN TRITICALE AND ITS PARENTAL SPECIES I. SOLUBILITY CHARACTERISTICS AND AMINO ACID COMPOSITION OF ENDOSPERM PROTEINS. Can. J. Plant Sci, 50 (9) 14.

- 12 Cheftel J C , Cuq J L y Lorient, D , 1989, *PROTEÍNAS ALIMENTARIAS*, Ed. Acribia, Zaragoza, España, 346 p.
- 13 Damodaran S., 1997, *FOOD PROTEINS AND THEIR APLICATIONS*, Marcel Dekker, Inc., New York, parte I y II, 1 – 341 p.
- 14 Kirk, Othemer, 1986, *Enciclopedia de Tecnología Química, Capítulos: GRASAS, ACEITES Y CEREALES*, Nueva York,.
15. Fennema, O.R , 1985, *INTRODUCCION A LA CIENCIA DE LOS ALIMENTOS*, Ed. Reverte, S.A., Barcelona, España.
- 16 Fligner, K L , y Mangino, M.E , 1991, *RELATIONSHIP OF COMPOSITION TO PROTEIN FUNCTIONALITY*, en *Interactions of food Proteins*, ACS Symp. Ser. (Parris y Barford Eds.), USA, 1-12
17. Flores Argüello I., 1997, *MODIFICACION ENZIMÁTICA Y QUIMICA DEL GLUTEN DE MAÍZ: POSIBILIDADES DE UTILIZACIÓN EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA*, Tesis de Maestría, Facultad de Química, 5 – 15,46 – 58 p.
18. Grist, D H., 1982, *ARROZ*, 1ª Edición, Compañía Editorial Continental, S.A , México, D.F.
19. Guerrero, L.M.C., 1973, *DESARROLLO DE UNA PLANTA PILOTO PARA EL PROCESAMIENTO DE SUBPRODUCTOS DEL ARROZ, PARA ELABORAR UN CONCENTRADO PROTEINICO PARA EL GANADO*, TESIS, Facultad de Química, UNAM.
- 20 Gnanasambandam, Ravin, and Hettiarachchy N.S., 1995, *PROTEIN CONCENTRATES FROM UNSTABILIZED AND STABILIZED RICE BRAN. PRÉPARATION AND PROPERTIES*, *Journal Of Food Science*, Vol. 60 No. 5, 1066 - 1074.
- 21 Hamada, J.S., 1997, *CHARACTERIZATION OF PROTEIN FRACTIONS OF RICE BRAN TO DEVISE EFFECTIVE METHODS OF PROTEIN SOLUBILIZATION*, *Cereal Chemistry* 74 (5) 662 -668.
- 22 Jamuna. Prakash, and Rmanatham, G., 1995, *PHYSICO-CHEMICAL AND NUTRITIONAL TRAITS OF RICE BRAN PROTEIN CONCENTRATE-BASED WEANING FOODS*, *Journal Food Science Technology*, Vol 32 No 5 395 - 399.
- 23 Juliano, B O , 1972, *THE RICE CARYOPSIS AND ITS COMPOSITION*, *Assoc. Cereal Chem*



- 24 Juliano, B O., 1972, RICE CHEMISTRY AND TECHNOLOGY, Assoc Cereal Chem. Inc
- 25 Kato, A, Shirmokawa, K And Kobayashi, K., 1991, IMPROVEMENT OF THE FUNCTIONAL PROPERTIES OF INSOLUBLE GLUTEN BY PRONASE DIGESTION FOLLOWED BY DEXTRAN CONJUGATION, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 39:1053-1056.
26. Kent, N , 1975, TECHNOLOGY OF CEREALS, Editorial Pergamon Press, Gran Bretaña.
27. Kik, M.C., 1985, NUTRIENTS IN RICE BRAN AND RICE POLISH AND IMPROVEMENT OF PROTEIN QUALITY WITH AMINO ACID, J. Agric. Food Chem, 4 (2) 170 -172.
- 28 Kinsella, J.E., 1982, RELATIONSHIP BETWEEN STRUCTURE AND FUNCTIONAL PROPERTIES OF FOOD PROTEINS, in Food Proteins, P F , Fox and J.J., Condon (ED.) p 51, Applied Science, New York.
- 29 Lehninger, 1989, BIOQUIMICA, Ed. Omega, México, D.F., Tomo 1.
- 30 Lew, E J.L , Houston, D.F., and Fellers, A., 1972, EXTRACTION OF PROTEIN FROM FULLFAT RICE BRAN, Procc. Of Amer Assoc. Cereal Chem. Meet, Oct, 10 –14 p.
31. Lew, E.J.L., Houston, D.F., and Fellers, D.A., 1975, A NOTE ON PROTEIN CONCENTRATE FROM FULL-FAT RICE BRAN, Cereal Chem., 52 (5) 748 – 750 p.
- 32 Morales, P. I. , y Ramírez B. G., 1990, EXTRACCION Y CARACTERIZACION DEL ACEITE DE SALVADO DE ARROZ (TIPO MORELOS), TESIS, Facultad de Química, UNAM.
- 33 Morita, Tatsuya, Oh-hashí, Akira, Kassaoka, Seiichi, Ikai, Michiyoshi and Kiriya, Shuhachi, 1996, RICE PROTEIN ISOLATES PRODUCED BY THE TWO DIFFERENT METHODS LOWER SERUM CHOLESTEROL CONCENTRATION IN RATS COMPARED WITH CASEIN, Journal Science Food Agriculture
34. Murcia, F.L. y Zetuna, C.E., 1973, APROVECHAMIENTO DE LOS SUBPRODUCTOS DEL ARROZ PARA PRODUCIR POR METODOS MICROBIOLOGICOS UN CONCENTRADO PROTEICO PARA EL GANADO, TESIS, Facultad de Química, UNAM.
35. Nakai, S., Li-Chan, E., et al., 1991, QUANTITATION OF HIDPHOBICITY FOR ELUCIADATING THE STRUCTURE-ACTIVITY RELATIONSHIPS OF FOOD PROTEINS, en Interactions of food proteins, ACS Symp. Ser. (Parris y Barford Eds.) USA, 42-58.

- 36 *National Academy of Sciences*, 1978, *NUTRITIONAL EVALUATION OF PROTEIN FOOD*, Washington, D.C.
- 37 Primo, Y., Carrasco, J., 1973, *QUIMICA AGRICOLA*, Vol. III, Alimentos 1ª edición, España.
- 38 Reyes, M.H., 1982, *OBTENCION DE AISLADOS PROTEICOS DE AVENA Y SOYA SU ADICION A BEBIDAS REFRESCANTES DE FRUTAS Y SU EFECTO EN EL ASPECTO SENSORIAL*, TESIS, Facultad de Química, UNAM.
- 39 Sangronis, E., Rebolledo, M.A., 1997, *CALIDAD DE PASTAS SUPLEMENTADAS CON SALVADO DE ARROZ*, *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, Vol. 47 No. 2.
- 40 Sangronis, E., Cafiero, J., Mosqueda, M., 1999, *CALIDAD DE COCCION DE PASTAS LARGAS SUPLEMENTADAS CON SALVADO DE ARROZ*, *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, Vol 47 No 2.
- 41 S. A. R. H., 1993, *ANUARIO ESTADISTICO DE LA PRODUCCION AGRICOLA NACIONAL*, Tomo I, México, D.F , Septiembre
- 42 Saunder, R.M., et al., 1974, *PREPARATION AND PROPERTIES OF PROTEIN CONCENTRATES OBTAINED BY WET PROCESSING OF CEREAL GRAIN MILLING BY PRODUCTS*, *Inst. Nat. Sci. and Food Technol.*, Madrid, Spain.
- 43 Takei, T., 1977, *UTILIZATION OF DEFATTED RICE BRAN AS FISH SOLUBLE ADSORBENT MATERIAL*, *Inst. Agric Chem , and Food Technol.*, Valencia, Spain.
- 44 Tinarelli, A , 1989, *EL ARROZ*, Ediciones Mundi Prensa, Madrid, España
- 45 Vázquez, S., 1987, *MONOGRAFIA DEL ARROZ*, *Estudios Monográficos de la ENEP Aragón*, UNAM, Escuela Nacional de Estudios Profesionales, Aragón, Mayo.
- 46 Youseff, A M , El Fouly, M M. and El-Baz, F.K., 1974, *ISOLATION AND CHEMICAL COMPOSITION OF PROTEIN CONCENTRATES FROM SOYABEAN, RICE BRAN AND PROTELAN*, *Plant Foods for Human Nutr.*, 24 (1-2) 71 - 84.
- 47 Zayas, J.F., 1994, VII 2, *Corn Germ Protein: FUNCTIONAL PROPERTIES IN A MODEL SYSTEM AND IN FOOD PRODUCTS*, *Biotechnology in Agriculture and Forestry*, Núm. 25, 513-535 p

48 Zhu, H. Y Damodaran, S., 1994, HEAT-INDUCED CONFORMATIONAL CHANGES IN WHEY PROTEIN ISOLATE AND ITS RELATION TO FOAMING PROPOERTIES, J. Agric Food Chem 42/4, 846-855 p