



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE QUIMICA

"APROVECHAMIENTO INTEGRAL DE SALVADO DE ARROZ:
EXTRUSIÓN ÁCIDA, ALCALINA Y SIN ADITIVOS"

TESIS MANCOMUNADA
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUÍMICO DE ALIMENTOS
P R E S E N T A N :
ESCAMILLA CASTILLO BENJAMÍN
VARELA MONTELLANO RENÉ



EXAMENES PROFESIONALES
FACULTAD DE QUIMICA

MÉXICO, D. F.

2005

m348758



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:

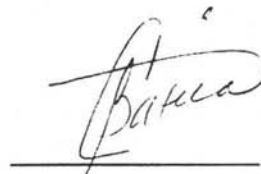
PRESIDENTE: MA DEL CARMEN DURAN DOMINGUEZ
VOCAL: GENOVEVO SILVA PICHARDO
SECRETARIO: LUCIA CORNEJO BARRERA
1ER SUP: PATRICIA SEVERIANO PEREZ
2DO SUP: MARIA DE LOURDES OSNAYA SUAREZ

SITIO EN DONDE SE DESARROLLO EL TEMA:

Dirección: Edificio "E", Lab. 301 (PIQA y QA), Planta Baja, Paseo de la Investigación Científica. Ciudad Universitaria, 04510, México, D.F. Teléfono: 622-5300 al 02 y 04. e-mail: mcduran@servidor.unam.mx

ASESOR:

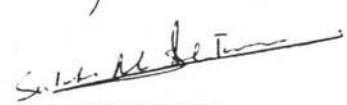
MA DEL CARMEN DURAN DOMINGUEZ



Handwritten signature of Ma del Carmen Duran Dominguez, written in black ink over a horizontal line.

SUPERVISOR TECNICO:

CAND. DR. M.C. SALVADOR ALEJANDRO SANCHEZ TOVAR



Handwritten signature of Salvador Alejandro Sanchez Tovar, written in black ink over a horizontal line.

SUSTENTANTES:

CASTILLO ESCAMILLA BENJAMIN

VARELA MONTELLANO RENE



Handwritten signatures of Castillo Escamilla Benjamin and Varela Montellano Rene, written in black ink over horizontal lines.

AGRACEDICIMIENTOS

DE BENJAMÍN:

A Dios por haberme dado la Vida

A mis padres, por su amor, ejemplo y apoyo incondicional.

A mis hermanos, por apoyarme en todo momento.

A Claudia, por su compañerismo, y por empujarme a sacar esto adelante.

A la Dra. Durán, que me tuvo toda la paciencia, y por ser un ejemplo a seguir.

RECONOCIMIENTOS

DE RENÉ

A mis padres:

Que me han demostrado que con trabajo y entereza se puede lograr todo, gracias por esta herencia que me han otorgado.

A mis hermanos y hermanas:

Por la influencia que tuvieron en mí.

A mis profesores:

Quienes me enseñaron que la vida no siempre es de color rosa.

A mis amigos:

Quienes estuvieron conmigo en las buenas y en las malas y que en todo momento me inspiraron para seguir adelante.

A la profesora Rosa María Bayona:

Quien fue la primera persona que sin conocerme creyó en mí y en mis capacidades, de quien tengo gran influencia, muchas gracias.

A mi universidad:

Que me educó para ser el mejor y que me ha entregado una gran responsabilidad.

A mi corazoncito:

Por que me ha manifestado que con amor se pueden vencer muchas adversidades, que gracias a su compañía la soledad ya no existe, y que me ha mostrado que la vida en compañía es más interesante, pero aunque muchas veces no te he demostrado cuanto te quiero, tu compañía me hace mucha falta, gracias por ser como eres, gracias de todo corazón, gracias por todo.

A la Dra. en Ing. María del Carmen Durán Domínguez de Bazúa:

Por su apoyo incondicional, su entusiasmo y su modelo a seguir, en el desarrollo de este trabajo.

Al Dr. Salvador A. Sánchez Tovar:

Por su comprensión y aliento, que nos guió, aún en sus tiempos de infelicidad.

Al beneficio de arroz San José:

Por todas las facilidades prestadas.

A todas las personas que de una u otra medida me han querido u odiado pero que de todas formas, tuvieron influencia en mí para bien o para mal.

A mis niños que con solo una palabra me demuestran que soy tan lánguido, y no tan infranqueable como yo pensaba, que con una sola palabra demuestran cuanto me quieren, llevándome a lo divino y arrojándome al sentimiento, espero ser un buen modelo para ustedes, muchas gracias hijos.

La ciencia es el intento de relacionar la caótica diversidad de nuestra experiencia sensorial con un sistema lógico y uniforme de pensamiento. Para un espíritu científico, todo conocimiento es una respuesta a una pregunta. Si no hubo pregunta, no puede haber conocimiento científico. Nada es espontáneo, nada está dado, todo se construye, el hombre animado por el espíritu científico sin duda desea saber, pero, es por lo pronto para interrogar mejor.

Prometo actuar por un mundo mejor donde la ciencia y la tecnología serán utilizados de manera ética. A lo largo de mi carrera examinaré las implicaciones éticas de mi trabajo y las consecuencias dañinas eventuales. Si realizo descubrimientos importantes, reconozco que la responsabilidad individual hacia la humanidad es la primera etapa para la vía que conducirá a la paz.

Dr. José Luz González

ÍNDICE

	Pag.
ÍNDICE	1
RESUMEN	5
CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN	6
I.1 OBJETIVOS	7
I.2 HIPÓTESIS	8
CAPÍTULO II. ANTECEDENTES	9
II. 1. EL GRANO DE ARROZ	9
II.1.1. Estructura y composición	9
II.1.2. Clasificación del grano	11
II.1.3. Tipos de grano y su comercialización en el mundo	12
II.1.4. Tipos de grano en México y su producción	13
II.1.5. Molienda del grano de arroz	15
II.2. SALVADO DE ARROZ	17
II.2.1. Características del salvado de arroz	17
II.2.2. Constituyentes químicos del salvado de arroz	20
II.3. ACEITE DE SALVADO DE ARROZ	26
II.3.1. Características y composición	26
II.4. EXTRUSIÓN	28
II.4.1. Fundamentos de la operación de extrusión	29
II.4.2. Componentes del proceso de extrusión	31

IV.5.1	Análisis de varianza para determinar el efecto de la humedad y concentración del Ca(OH)_2 en la formación de los ácidos grasos libres	55
IV.5.2.	Análisis de varianza para determinar el efecto de la humedad y concentración del HCl en la formación de los ácidos grasos libres	56
IV.5.3.	Gráficas de contorno y de superficie de respuesta	60
IV.5.3.1	Proceso de optimización	62
CAPÍTULO V.	CONCLUSIONES	64
BIBLIOGRAFÍA		67
ANEXOS		
ANEXO I.	ACERVO FOTOGRÁFICO	71
ANEXO II.	DATOS EXPERIMENTALES	76
ANEXO III	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	83
ANEXO IV	PUBLICACIÓN A LA REVISTA EUROPEAN JOURNAL OF LIPID SCIENCE AND TECHNOLOGY	92
ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS		
Tabla 1.1.	Tabla de producción de arroz por entidad federativa	8
Tabla 2.1.	Algunas variedades de arroz cultivadas en México	13
Tabla 2.2.	Porcentaje de las fracciones en la molienda	16
Tabla 2.3.	Composición química de los productos de la molienda	17
Tabla 2.4.	Fluctuaciones en la composición química del salvado de arroz	21
Tabla 2.5.	Fluctuaciones en la composición debida al tipo de molino empleado	21
Tabla 2.6.	Propiedades de las enzimas Lipasa I y Lipasa II	24
Tabla 2.7	Contenido de vitaminas en el salvado de arroz	26
Tabla 2.8.	Características del aceite de salvado de arroz	26
Tabla 2.9.	Contenido de ácidos grasos en el aceite del salvado	27
Tabla 2.10.	Ácidos grasos presentes en el aceite de salvado de arroz	27
Tabla 3.1	Valores de pH correspondientes a las diferentes concentraciones de HCl y Ca(OH)_2 adicionadas para cada ensayo	44

Tabla 4.1.	Análisis proximal del salvado de arroz	45
Tabla 4.2.	Análisis químico del aceite	46
Tabla 4.3.	Análisis químicos de las muestras de salvado extrudidas (correspondientes al día cero, antes del inicio de la oxidación enzimática)	49
Tabla 4.5.	Tabla 4.5. Muestras considerando humedad, pH, % de ácidos grasos libres y tiempo almacenamiento.	54
Figura 2.1.	Estructura del grano de arroz	10
Figura 2.2.	Flujo de energía en la extrusión	30
Figura 2.3a.	Diagrama esquemático de un extrusor	31
Figura 2.3b.	Diagrama esquemático del sistema barril-tornillo de un extrusor	32
Figura 2.4	Diagrama esquemático del soporte del tornillo de un extrusor y del sistema de rotación	33
Figura 3.1.	Complejo formado entre los AGL y el acetato cúprico	35
Figura 3.2.	Diagrama de flujo de los experimentos realizados	41
Gráfica 2.1.	Contenido en nutrientes del salvado y germen	18
Gráfica 4.1.	Barrido espectrofotométrico de la muestra H1, un estándar de ácido oleico y un estándar del solvente (éter etílico)	46
Gráfica 4.2.	Barrido espectrofotométrico de un estándar sin considerar el solvente	47
Gráfica 4.3.	Curva estándar para determinar la concentración de ácidos grasos libres	48
Gráfica 4.4a.	Muestras extrudidas vs días y % de ácidos grasos libres (Vista en tres dimensiones)	50
Gráfica 4.4b.	Muestras extrudidas vs % de ácidos grasos libres (Vista en dos dimensiones, día 0 de almacenamiento)	51
Gráfica 4.4c.	Muestras extrudidas vs pH y % AGL	53
Gráfica 4.4d.	Curva de contorno de humedad vs pH y % de ácidos grasos libres	55
Gráfica 4.5a.	Superficie de respuesta de ácidos grasos libres para las muestras tratadas con Ca(OH)_2	60
Gráfica 4.5b.	Gráfica de contorno de ácidos grasos libres para las muestras tratadas con Ca(OH)_2	60
Gráfica 4.5c.	Superficie de respuesta de ácidos grasos libres para las muestras tratadas con HCl	61
Gráfica 4.5d.	Gráfica de contorno de ácidos grasos libres para las muestras tratadas con HCl	61

RESUMEN

El salvado de arroz es considerado en la industria del beneficio de arroz como "residuo". Sin embargo, contiene una cantidad importante de aceite que puede utilizarse para consumo humano, lo que da un valor agregado al producto. Uno de los problemas que existen para la extracción del aceite del salvado de arroz es su inestabilidad, debida a la acción de enzimas como la lipasa, que degrada rápidamente los aceites presentes. Con este proyecto se propone dar una solución a dicha inestabilidad del salvado de arroz por medio de la extrusión, al estudiar el efecto que tiene dicho proceso en la estabilización del salvado a diferentes valores de pH por medio de la adición de ácido clorhídrico (HCl), hidróxido de calcio ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) o sin modificación del pH. Las variables controladas fueron la humedad de las muestras del salvado de arroz desde 20 hasta 40 % en base seca (b.s.) así como las concentraciones de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ y HCl en 1, 5 y 10 % en b.s., respectivamente, en diseños experimentales factoriales 3 x 3 de superficie de respuesta. La variable a estudiar es el incremento de la concentración de ácidos grasos libres (AGL), los cuales fueron medidos por un método basado en trabajos previos. Los resultados revelan que en las muestras extrudidas a valores ácidos, el incremento en la concentración de AGL es menor, luego de haber transcurrido 98 días, seguido de las muestras en las cuáles no hubo modificación del pH y mostrando un incremento mayor de AGL en las muestras con pH alcalino. Por medio de superficies de respuesta se determinaron los valores óptimos de pH y humedad en los cuales el incremento de AGL es menor, a pH de 6.6 (1%) y 20% de humedad, respectivamente.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

Uno de los retos primordiales del país es la producción suficiente de los alimentos básicos de consumo popular, lo que hace de la industria alimentaria un factor determinante en el aprovechamiento y distribución de los alimentos. Sin embargo, la industrialización de alimentos trae consigo una serie de problemas a resolver, que van desde la producción suficiente de materias primas hasta la utilización de los subproductos que se generan durante los diferentes procesos de producción.

Esto lleva a la necesidad de un reaprovechamiento integral de las materias primas y de los subproductos formados. Un ejemplo de estos problemas está en la industria del beneficio del arroz, planta de origen asiático pero fuertemente ligada a la costumbre mexicana desde la invasión española y los viajes de la "Nao de China". El arroz, junto con el maíz y el frijol son algunos de los principales alimentos de la población mexicana.

La producción de arroz en México es importante (Tabla 1.1) y representa el tercer cultivo en orden de importancia por millones de toneladas producidas anualmente, a pesar de que en los últimos años se ha tenido la necesidad de importar arroz pulido para satisfacer la creciente demanda de la población. La industrialización del arroz implica un proceso de "molienda" (en realidad de pulido del grano) del cual se obtienen, como productos principales el arroz blanco o pulido, la cascarilla y el *salvado de arroz* (Hoseney, 1991). El salvado representa el 10% del grano de arroz entero. La cantidad de aceite que contiene este subproducto es del 10 al 22%. El salvado de arroz puede ser una fuente importante de aceite, proteínas y otros nutrimentos y, sin embargo, no es aprovechado en México por

contener un alto porcentaje de fibra indigerible (alrededor de 10%) pero, sobre todo y aún más importante que lo anterior, es la alta actividad de las lipasas presentes en el salvado que rápidamente hidrolizan el aceite contenido en el salvado y lo transforman en ácidos grasos libres (AGL). Estos son luego oxidados por las peroxidasas, lo que provoca el enranciamiento del salvado. Para que el salvado de arroz pueda ser utilizado, se ha venido estudiando un proceso que se ha denominado estabilización. Tal proceso consiste llanamente en eliminar o reducir la actividad de los constituyentes que provocan tal deterioro. En este caso se trata de inactivar las enzimas responsables de la hidrólisis del aceite, las lipasas.

Actualmente se han realizado diversos estudios para lograr la estabilización del salvado de arroz aplicando varios tratamientos tanto químicos como físicos. Sin embargo, aún se siguen buscando métodos más eficientes, económicos y apropiados a las condiciones particulares de los países productores (Sánchez-López, 1997; Sánchez-López y col., 1999).

En el presente trabajo se realizó un estudio de estabilización del salvado de arroz; en el que se aplicó el método de extrusión con modificación de las condiciones de pH para evaluar la reducción de la actividad de las lipasas y la consecuente reducción en la rancidez del salvado almacenado a lo largo del tiempo a temperaturas relativamente elevadas, como las que se tienen en las zonas de beneficio de arroz.

I.1. OBJETIVOS

Los objetivos de esta investigación son:

- Caracterizar el salvado de arroz proveniente de una arrocera del Estado de Morelos y
- Estudiar el efecto que tiene la extrusión en la estabilización del salvado de arroz en diferentes condiciones de pH (mediante la adición de ácido y álcali).

ESTADO	VOLUMEN DE LA PRODUCCIÓN AGRÍCOLA (TONELADAS)	VALOR DE LA PRODUCCIÓN (MILES DE PESOS)
Campeche	51521	62548
Colima	13352	19737
Chiapas	1781	3594
Guerrero	904	2339
Jalisco	6549	12865
México	3094	8044
Michoacán de Ocampo	29635	37719
Morelos	25097	57321
Nayarit	9090	13516
Oaxaca	589	825
Puebla	108	254
Sinaloa	3941	6863
Tabasco	28768	37495
Tamaulipas	3115	4872
Veracruz	49095	67664
Estados Unidos Mexicanos	226639	335658

Tabla 1.1. Tabla de producción de arroz por entidad federativa (SAGARPA, 2002).

I.2. HIPÓTESIS

La hipótesis en la que se basa esta investigación es:

El proceso de extrusión, por su naturaleza, incrementa la temperatura del material a extrudir por efectos del cambio de la energía mecánica en calor (fricción) y este aumento de la temperatura afecta la estructura química de las lipasas y de otras enzimas.

Esta modificación de la estructura química de las lipasas puede ser "ayudada" químicamente por la modificación del pH del sistema, mediante la adición de concentraciones específicas de hidróxido de calcio o de ácido clorhídrico. Por el efecto del cambio de pH mediante la adición de estos compuestos químicos en la inactivación enzimática durante la extrusión.

Considerando las propiedades de estas enzimas, el valor del pH influirá de forma importante en el proceso de inactivación.

CAPÍTULO II

ANTECEDENTES

Se les nombra cereales a las plantas de la familia de las gramíneas que se cultivan para aprovechar sus granos, que son comestibles. Los granos más importantes son el trigo, la cebada, el maíz, la avena y el arroz. En México los más importantes por su nivel de producción son el maíz, el sorgo y el arroz (SAGARPA, 2002).

El nombre científico del arroz es *Oryza sativa*. Es nativa del sureste asiático y se cultiva desde hace más de 8,000 años. Se han hallado pruebas de su cultivo datadas antes del año 5000 a.C., en el oriente de China y antes del año 6000 a.C., en una caverna del norte de Tailandia. El arroz crece en terrenos muy calurosos y húmedos. Alcanza casi un metro de altura y forma flores perfectas, con seis estambres y un solo pistilo. El fruto, un grano, se dispone en una panícula formada por varias espiguillas que crece en el ápice del tallo. El endospermo blanco está encerrado en una membrana de salvado rodeada a su vez por una cáscara de color castaño (Primo, 1982).

II.1. EL GRANO DE ARROZ

II.1.1. Estructura y composición

El grano de arroz *palay* (palabra de origen oriental que significa arroz con cáscara) se compone de una cubierta protectora exterior que es la cáscara propiamente dicha y la cariopsis o fruto del arroz. La cariopsis del arroz está cubierta por dos glumas fluorescentes: la

lemma y la pálea. La raquilla y el pedículo, dos pequeñas lemmas estériles, pueden estar presentes en el grano de arroz *palay* dirigido a la molinenda. La estructura del grano de arroz se muestra en la Figura 2.1. La capa más externa de la cariopsis es el pericarpio. Inmediatamente después del pericarpio, se encuentra una capa conocida por algunos autores como testa y como tegumento por otros y, posteriormente, se localiza la capa de aleurona y el endospermo almidonáceo (Hosney, 1991).

El germen se ubica en una cavidad en la parte baja de la cariopsis. El arroz integral o "arroz café" se compone de las capas exteriores que forman el pericarpio, del germen o embrión y del endospermo. La cascarilla o gluma constituye aproximadamente el 20% del peso del arroz integral, aunque según la variedad de que se trate puede oscilar del 16% hasta el 28% (Primo, 1970).

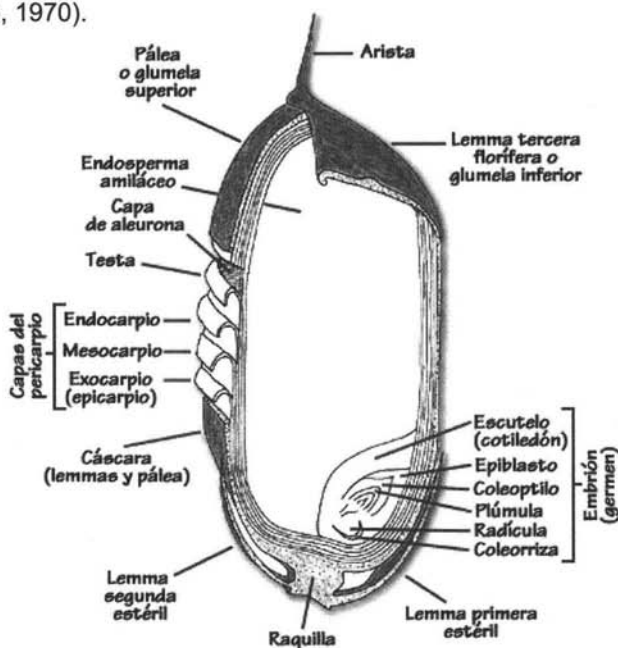


Figura 2.1. Estructura del grano de arroz

La distribución del peso del arroz integral es como sigue: Pericarpio 1-2%, germen 1%, aleurona 4-6%, escutelo 2% y endospermo 90-91% (Primo, 1970).

La capa de aleurona varía de una a cinco subcapas celulares, que son más espesas en la parte dorsal que en la ventral y más gruesas en el arroz de grano corto (*Japónica*) que en el de grano largo (*Indica*). Las células de la aleurona y del embrión son ricas en compuestos proteínicos que contienen derivados del ácido fítico y compuestos grasos.

Las células del endospermo son de pared delgada y están envueltas en amiloplastos que contienen gránulos de almidón compuesto; las dos capas de células más exteriores (que son las subaleuronas) abundan en proteínas y lípidos y tienen también amiloplastos y gránulos de almidón compuesto, más pequeños que el endospermo interior. Los gránulos de almidón son poliédricos y casi siempre miden de 3 a 4 micrómetros con una distribución unimodal. El endospermo del arroz común (no glutinoso) es translúcido porque contiene amilosa y amilopectina, en cambio, el del arroz glutinoso (que sólo tiene hasta 2% de amilosa), es opaco debido a la presencia de poros entre y dentro de los gránulos amiláceos.

La proteína se presenta principalmente en forma de compuestos proteínicos esféricos de 0.5 a 4 micrómetros de tamaño y se sitúan en todo el endospermo; sin embargo, en la subaleurona se hallan otros compuestos proteínicos cristalinos y otros esféricos pequeños (McCall, 1953).

II.1.2. Clasificación del grano

El grano de arroz puede clasificarse por tamaño y forma (Efferson, 1985):

A. Tamaño: En el ámbito internacional se emplea la siguiente escala para los tamaños del grano pulido:

a. Extralargo: > de 7.5 mm.	b. Largo: de 6.61 a 7.50 mm.
c. Mediano: de 5.51 a 6.6 mm.	d. Corto: < de 5.5 mm.

B. Forma (basándose en la relación largo/ ancho):

a. Delgado: > 3.0 mm.	b. Mediano: 2.1 a 3.0 mm.
c. Ancho: 1.1 a 2.0 mm.	d. Redondo: < 1.0 mm.

II.1.3. Tipos de grano y su comercialización en el mundo (Efferson, 1985)

En el mercado internacional el arroz se comercializa a través de seis tipos básicos, que son:

- a. Arroz de grano largo y de alta calidad. Se vende principalmente en Europa Occidental y el Oriente Medio.
- b. Arroz de grano largo y regular calidad. Se vende en países deficitarios de Asia como Indonesia y Malasia. México actualmente está importando granos de esta clase.
- c. Arroz de grano corto. Este se vende en ciertos países con demanda especial de este tipo de grano, como Japón, Corea, Taiwán y otros.
- d. Arroz precocido ("parboiled", en inglés) Se expende en algunos países muy particulares de Asia, como Bangla-Desh, India y Sri-Lanka.
- e. Arroz aromático. Este tipo de arroz ocupa un lugar especial en el mercado, ya que se vende a altos precios debido a que, en términos de calidad, es difícil de procesarse en el molino así como almacenarse. Se produce en la región de Punjab que se sitúa en ambos lados del Río Indus en Pakistán e India, países que lo venden principalmente en Oriente Medio y Rusia.

- f. Arroz glutinoso. Se caracteriza porque la composición de sus almidones es diferente al de los otros tipos de arroces, cuyo endospermo es blanco y completamente yesoso. Su principal mercado se sitúa en el norte de Tailandia, Laos y Camboya.

II.1.4. Tipos de grano en México y su producción

En México se producen un número importante de variedades de arroz, como lo muestra la Tabla 2.1 (Delgado y col., 1984).

NOMBRE DE LA VARIEDAD	LUGAR DE PROCEDENCIA
Morelos A-70	Zacatepec, Morelos
Navolato A-71	Culiacán, Sinaloa
Bamoa A-75	Culiacán, Sinaloa
Sinaloa A-80	Culiacán, Sinaloa
CIAS-33 CUV-81	Culiacán, Sinaloa
Piedras Negras A-74	Cotaxtla, Veracruz
Joachin A-74	Cotaxtla, Veracruz
Juchitán A-74	Juchitán, Oaxaca
Huastecas A-80	Huastecas, Tamaulipas
Grijalva A-71	Huimanguillo, Tabasco
Macuspana A-75	Huimanguillo, Tabasco
Cárdenas A-80	Huimanguillo, Tabasco
Champotón A-80	Campeche, Campeche
Campeche A-80	Campeche, Campeche

Tabla 2.1. Algunas variedades de arroz cultivadas en México (Delgado y col., 1984)

De acuerdo con las características del grano, en México se producen y consumen principalmente dos tipos de arroces, el "Sinaloa" y el "Morelos". El primero es de grano mediano, cristalino y simétrico (6.0 mm de largo por 2.0 mm de ancho); el segundo es grande y oblongo (7.2 a 7.6 mm de largo por 3.0 mm de ancho), con la peculiaridad de que en éste

el centro es de apariencia yesosa, por lo que popularmente se le conoce como grano de "panza blanca". La Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (Sagarpa) considera un tercer tipo de grano que es producido por la variedad "Milagro Filipino Depurado", el cual también es oblongo y con "panza blanca" pero su tamaño es más pequeño que el tipo "Morelos"; generalmente, en el mercado no se considera este tipo de grano, ya que el público consumidor sólo reconoce a los dos primeros. El arroz tipo "Sinaloa" se produce en el noroeste, noreste y sureste del país, mientras que el tipo "Morelos" se produce en la región central (Morelos, Puebla, México, Guerrero y valle de Apatzingán, Michoacán), mientras que el "Milagro Filipino Depurado" sólo se produce en algunas áreas de Veracruz, Tabasco y Campeche.

Por la calidad del grano, reconocida por los consumidores y por su alto costo de producción, el arroz tipo "Morelos" recibe de la Secretaría de Comercio y Fomento Industrial (SECOFI), la autorización para ser vendido a un precio superior al arroz tipo "Sinaloa". Este sobreprecio en la década de los ochenta, varió del 19 al 53.4% y en los noventa fue del 38.9 al 48.8%.

Además de que el arroz tipo "Morelos" cuenta con esta distinción, recientemente ha surgido la idea de conseguir una "denominación de origen", la cual se refiere al nombre del estado de Morelos donde fue generado y que servirá para designar este producto como originario de dicha entidad, cuya calidad se debe al medio geográfico que incluye factores ecológicos y humanos. Con esta exclusividad se podrá lograr un mejor precio del arroz tipo "Morelos" por no tener competidores que saturen su mercado.

La producción de arroz en México se lleva a cabo básicamente bajo tres sistemas de

cultivo que son: Siembra directa bajo riego, transplante bajo riego y siembra directa en condiciones de temporal. En cuanto a los ciclos de cultivo, el arroz se siembra tanto en Primavera-Verano (PV), como en Otoño-Invierno (OI). En el ciclo PV se utilizan los tres sistemas de manejo, mientras que en OI sólo se cultiva en condiciones de siembra directa bajo riego. En promedio, el 90% de la producción de arroz corresponde al ciclo PV (Osuna y col., 2000).

II.1.5. Molienda del grano de arroz (Hoseney, 1991)

El arroz se consume principalmente como grano blanco. Éste es el resultado de un proceso conocido como "molienda" (aunque no se desee moler el grano), en el cual se rompe la cariopsis, mostrando la capa más externa o pericarpio. El proceso de beneficiado o blanqueo se realiza para remover el pericarpio, la testa, las capas de aleurona y el germen, aún cuando a veces se separan también partes del endospermo. Este proceso de "molienda" consta generalmente de las etapas siguientes:

- a) Limpieza: Separación de las impurezas que acompañan al grano integro, tal como se cosecha. Se efectúa mediante aspiradores de polvo, tamices, separadores de piedras y separadores magnéticos.
- b) Descascarillado: Separación de la cáscara. Se separa por fricción entre discos de esmeril y de carburo de silicio, uno estacionario y el otro rotativo o entre rodillos de caucho que giran a distinta velocidad. El arroz descascarillado resultante se denomina arroz cargo, moreno o integral.

c) Blanqueo o molienda: Separación de las cubiertas exteriores de la cariopsis y del germen. Se realiza en blanqueadores de tipo vertical, de cono, normal o volcado o de tipo horizontal, de forma cilíndrica. Ambos tipos de máquinas blanquean el grano por abrasión, con superficie de esmeril-carburo de silicio. Un tercer tipo de blanqueador pule el arroz por fricción de unos granos con otros. Como resultado de esta etapa se obtiene el arroz blanco elaborado, apto para consumo. *El polvo separado por la acción abrasiva constituye el subproducto denominado salvado; el germen se separa con esta fracción.*

d) Clasificación: En esta última etapa los medianos se separan de los enteros mediante zarandas y "triarvejones" y se clasifican por tamaños.

El porcentaje de cada una de las fracciones que se desprenden de la molienda se presenta en la Tabla 2.2 (Primo, 1970).

PRODUCTO	% EN PESO
Arroz cáscara (entero)	100
Arroz blanco	60-70
Cascarilla	16-21
Salvado	5-12
Germen	1.5-2.5
Medianos	5-15

Tabla 2.2. Porcentaje de las fracciones en la molienda (Primo, 1970)

La composición química y el valor nutritivo de los productos de la molienda del arroz se presentan en la Tabla 2.3.

COMPONENTE (POR 100 g DE MUESTRA, MATERIA SECA)					
PRODUCTO	PROTEÍNAS	GRASA	FIBRA	CENIZAS	CARBOHIDRATOS
ARROZ BLANCO	8.1-8.4	0.3-0.6	0.3-0.5	0.5-0.6	90.1-90.6
CASCARILLA	2.2-4.8	0.4-0.8	47.3-53.4	15.3-20.3	26.0-34.2
SALVADO	12.9-16.8	14.5-17.0	9.4-10.3	8.6-9.9	47.4-52.9
GERMEN	19.2-26.4	19.9-23.8	3.0-4.8	7.1-10.1	39.8-49.2
MEDIANOS	7.2-9.7	0.4-2.8	1.2-4.7	0.5-3.5	78.2-90.2

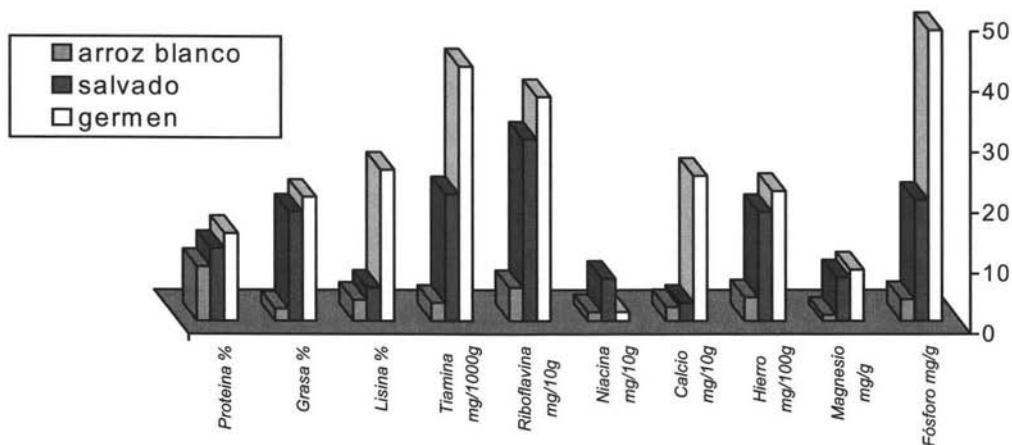
Tabla 2.3. Composición química de los productos de la molienda (Primo, 1970)

El salvado y el germen son ricos en proteínas y en grasa, si bien su contenido de fibra también es alto, lo que dificulta su utilización en alimentos. Estos subproductos contienen una cantidad apreciable de vitaminas y minerales, por lo que su valor nutricional es bueno, comparado con el endospermo de arroz (Gráfica 2.1) (Primo, 1970).

II.2. SALVADO DE ARROZ

II.2.1. Características del salvado de arroz

El salvado de arroz está constituido de las porciones del grano que se desprenden durante el blanqueo, que incluye las capas de pericarpio, testa más algunas partículas del endospermo y, ocasionalmente, algunas porciones de la cascarilla. El salvado de arroz es una fuente excelente de aceite comestible, de proteínas y de otros nutrimentos. Su potencial en alimentación es, por tanto, considerable.



Gráfica 2.1. Contenido en nutrientes del salvado y germen (Primo, 1970)

Sin embargo, en muchos países, incluido México, se vierte como residuo a los cuerpos receptores, suelos y corrientes superficiales de agua como los ríos, se quema o se utiliza como pienso. Esto sucede en áreas donde la población sufre grave deficiencia proteinica en la dieta e, incluso, en muchos casos donde existe un déficit de aceites vegetales comestibles. Las causas fundamentales por las que el salvado no se consume como alimento humano son:

- a) La alteración rápida que experimenta el componente graso por las altas temperaturas y humedades ambientales en los "molinos" de arroz.
- b) El alto contenido de fibra del producto, cuando se mezcla con la cascarilla lo que lo hace indigerible para el hombre.

Las grasas del salvado de arroz, una vez que éste se separa del grano, se alteran con gran rapidez.

Por una parte, las lipasas hidrolizan los lípidos, aumentando el contenido en ácidos grasos libres (AGL) hasta extremos en que el refinamiento del aceite ya no resulta rentable. Por otro lado, esta liberación de AGL aumenta el pH, lo cual trae consigo la activación de las enzimas oxidativas (lipoxidasas, peroxidasas) que dan lugar a la oxidación de los ácidos grasos. El resultado de la hidrólisis y de la oxidación es la formación de compuestos volátiles responsables del olor y el sabor típico de la grasa enranciada y dan lugar a una disminución del valor nutritivo del producto por combinarse o por reaccionar con las vitaminas y aminoácidos. Una manera de evitar el deterioro del aceite es extraerlo inmediatamente después de la obtención del salvado en el molino. Esto se realiza en países como Japón y Uruguay, pero en la mayoría de los países, incluido México, no se practica debido a la falta de desarrollo tecnológico (asociado no solamente a la falta de recursos financieros para invertir el capital inicial que requieren los equipos de extracción), sino también debido a la gran dispersión de la industria molinera que procesa cantidades relativamente pequeñas lo que hace incosteable la adquisición de estos equipos de extracción (Solís-Fuentes y Durán-de-Bazúa, 1990).

La composición del salvado de arroz depende de una variedad de factores asociados con el mismo grano de arroz y el proceso de molienda a que ha sido sujeto. Los principales factores asociados con el grano son la variedad y la variabilidad ambiental en:

- (1) Composición química promedio.
- (2) Distribución de constituyentes químicos.
- (3) Espesor de las capas anatómicas externas.
- (4) Tamaño y forma de los granos.

(5) Resistencia de los granos al rompimiento y la abrasión.

Los principales factores asociados con el proceso de molienda son:

(1) Métodos de procesamiento y máquinas.

(2) Condiciones de molienda y como éstas afectan el grado y uniformidad de molienda.

Los datos reportados también pueden variar dependiendo de las técnicas analíticas usadas por diferentes autores. La falta de definiciones claras de subproductos como la mezcla de salvado-pulido-germen en datos analíticos reportados, contribuyen a la confusión y ampliación de los porcentajes de variación de los datos de la composición química.

La Tabla 2.4 contiene los valores máximos y mínimos del análisis proximal del salvado de arroz debido a los factores de variabilidad y variedad de los granos de arroz y la Tabla 2.5 los valores que se obtienen cuando el arroz se procesa mediante diferentes tipos de molino, dados por Barber y Benedito de Barber (1977). Algunos valores extremos se asocian con factores particulares, por ejemplo, muy baja proteína y aceite y contenido muy alto de fibra y cenizas que son características del salvado obtenido de molinos de tipo descascarillador.

II.2.2. Constituyentes químicos del salvado de arroz (Primo, 1982)

a) Hidratos de carbono

El almidón, que se encuentra en abundancia sólo en el endospermo, ha sido identificado en el germen y capas de la aleurona y está aparentemente ausente en el pericarpio y cubierta de la semilla. El salvado comercial contiene una cantidad exacta de almidón debido al endospermo presente (McCall y col., 1953). Los valores reportados varían

de 10 a 15% en base seca. El contenido de almidón en el salvado se incrementa desde el primer paso hasta el último en una máquina blanqueadora.

CONSTITUYENTES (% BASE SECA)	MÍNIMO	MÁXIMO
Proteína	6.7 ¹ ; 11.5	17.2
Grasa	4.7 ¹ ; 12.8	22.6
Fibra	6.2	14.4 ; 26.9 ¹
Ceniza	8.0	17.7 ; 22.2 ¹
NFE	33.5	53.5

¹ Para molinos tipo descascarillador

Tabla 2.4. Fluctuaciones en la composición química del salvado de arroz (Barber y Benedito de Barber, 1977)

CONSTITUYENTES (% BASE SECA)	MOLINO TIPO DESCASCARILLADOR	MOLINO TIPO CONO
Proteína cruda	10.01	13.95
Aceite	7.31	16.29
Fibra cruda	21.48	9.93
Ceniza	22.16	11.94
NFE	39.03	47.88

Tabla 2.5. Fluctuaciones en la composición debida al tipo de molino empleado (Barber y Benedito de Barber, 1977)

También se ha reportado la presencia de glucosa, fructosa y sacarosa como azúcares libres en el salvado de arroz (Parihar y col., 1955). La rafinosa ha sido encontrada en el 80% del extracto de salvado, obtenido con alcohol etílico.

El salvado es rico en celulosa y hemicelulosa. Para la celulosa cruda, varía de 9.64 a 12.80%. Para el pulido de arroz, de 2.10 a 5.25%. La hemicelulosa B del salvado se reportó

que contiene un 67.9%, primariamente pentosas (59.6%). Xilosa, arabinosa, galactosa y ácido urónico fueron identificados como los componentes principales, siendo los dos primeros los predominantes.

La lignina, otro biopolímero importante que es parte constitutiva de la matriz estructural de las células vegetales, se encuentra presente y su contenido varía de 7.70 a 13.11 % en el salvado (Leoncio, 1966).

b) Proteínas y otros componentes nitrogenados

El contenido de nitrógeno del salvado varía dentro de un amplio margen, alrededor de 1-3% en base seca. El contenido de nitrógeno se multiplica usualmente por el factor 5.95 para su conversión a contenido de proteína. Para fines comerciales, particularmente en la industria de los alimentos para ganado, el factor usado es de 6.25 (Hoseney, 1991).

La parte más importante del nitrógeno del salvado es la proteína, de alrededor de un 16% del total del nitrógeno del salvado de arroz. Los datos reportados para aminoácidos libres en el salvado varían de 22 a 300 mg/100 gramos de salvado (Sugimura y Ebisawa, 1956). Los principales aminoácidos en el salvado son el glutámico (7-31 %), alanina (11-16 %) y serina (5-15%). Otros compuestos nitrogenados reportados son la guanina, xantina, adenina, hipoxantina, histidina, amonina, dimetilamina, trimetilamina, citosina, ácido nicotínico, guanidina, betasina, colina, uracil, flavina, adenina dinucleotida y flavina mononucleótida. La información sobre las fracciones de proteínas de salvado todavía es insuficiente. El contenido de proteína en el salvado de distintas variedades de arroz fluctúa

de 13.3 a 15.5% y de 16.0 a 17.4%. Las fracciones principales de proteína en el salvado son la albúmina y la globulina.

c) Enzimas

El salvado de arroz es rico en sistemas enzimáticos. Se han reportado las siguientes enzimas: α y β -amilasa, oxidasa de ácido ascórbico, catalasa, oxidasa citocrómica, deshidrogenasa, desoxirribonucleasa-I, esterasa, oxidasa flavina, α y β glucosidasa, ferredoxina NADH reductasa, descarboxilasa del ácido glutámico, sintetasa de glutamina, reductasa, β -glicerofosfatasa, invertasa, lecitinasa, lipasa, lipoxigenasa, diaforasa, maltasa, pectinasa, peroxidasa, fosfodiesterasa, fosfomonoesterasa, fosfatasa, fitasa, polifenoloxidasasa, proteasa, transhidrogenasa nucleótida piridina y deshidrogenasa succinato.

El germen y las capas exteriores de la cariósida son los lugares en donde más se da la actividad enzimática. De entre las enzimas, la lipasa ha ameritado más atención debido a que ésta afecta la calidad de conservación y el grado de la utilización industrial del salvado de arroz. En el grano intacto las lipasas están inactivas. Las lipasas se localizan en la capa transversal de los granos de arroz, mientras que el aceite está en las capas de la aleurona, la subaleurona y en el germen (Shastri, 1973).

Cuando el salvado está siendo eliminado durante la molienda del arroz, la enzima y el sustrato aparecen juntos, por lo que comienza el deterioro del aceite.

Aislaron y caracterizaron las lipasas del salvado de arroz Aizono y col. (1976) y encontraron que existen dos tipos, descritos como Lipasa I y Lipasa II. La Tabla 2.6 muestra las características de estas enzimas.

Las lipasas se activan por una baja concentración de calcio y se inhiben parcialmente por altas concentraciones de este ión, por EDTA y metales pesados. Bajo ciertas condiciones, las oxidasas causan deterioro del aceite y otros constituyentes del salvado. Así, la peroxidasa causa daños a los componentes del salvado (aceites, tocoferoles) a bajos niveles de humedad. El fenómeno del deterioro del aceite se realiza conjuntamente por dos grupos de enzimas, principalmente las lipasas y las peroxidasas. Algunas enzimas, como las peroxidasas, pueden regenerar su actividad después de su total desactivación si no se toman las medidas necesarias. Otras enzimas, como las lipasas, se reactivan cuando el contenido de humedad se incrementa (Saunders y col., 1964).

CARACTERÍSTICA	LIPASA I	LIPASA II
Termoestabilidad (°C)	30	40
Intervalo de estabilidad a variaciones de pH	5~9.5	4~9.0
Temperatura óptima (°C)	27	37
Valor de pH óptimo	7.5~8.0	7.5~8.0
Coefficiente de sedimentación	2.60 S	2.97 S
Peso molecular	33,300	40,000
Punto isoelectrico	9.10	8.56
UV _{max}	278 nm	278 nm
UV _{min}	254 nm	250 nm
UV _{max} / UV _{min}	1.58	2.63

Tabla 2.6. Propiedades de las enzimas Lipasa I y Lipasa II (Aizono y col., 1976)

Estos estudios muestran que la resistencia de las enzimas del salvado depende, sobre todo, de la temperatura y tiempo de tratamiento, así como también del contenido de humedad, siendo este último el parámetro más crítico.

La medida de la actividad de la peroxidasa residual ha demostrado ser un método confiable y conveniente para asegurar la efectividad de la estabilización (Barber y Benedito-de-Barber, 1977). Otra manera de evaluar consiste en la determinación analítica de los ácidos grasos libres contenidos en el aceite de salvado de arroz, para así mostrar qué tan bueno ha sido el método de estabilización. La peroxidasa es más resistente al calentamiento que la lipasa y otras enzimas del salvado (Cordero y col., 1985,1986).

d) Minerales y vitaminas

El fósforo es uno de los principales minerales del salvado. También presenta potasio, magnesio y silicio. Los niveles de calcio, cloro, manganeso, hierro y sodio son bajos en el salvado de arroz. Bario y boro están presentes en cantidades mínimas y sólo se distinguen algunos rastros. Cobalto, cromo, germanio y vanadio no han sido detectados espectroquímicamente (McCall y col., 1953). El salvado es abundante en vitaminas del grupo B y tocoferoles y es pobre en vitaminas A y C. No ha sido reportada la vitamina D en el salvado. Se ha reportado la pérdida total de ácido ascórbico después de un mes de almacenamiento a 27°C (80.6°F) (Carangian y Sutaria, 1970). El rápido deterioro puede ser la razón para la ausencia de esta vitamina en algunas muestras de salvado (Tabla 2.7) (Barber y Benedito-de-Barber, 1977).

VITAMINAS	CONTENIDO µg/g (BASE SECA)
Vitamina A (carotenos)	4.2
Tiamina	10.1-27.9
Riboflavina	1.7-3.4
Niacina (ácido nicotínico)	236-590
Piridoxina	10.3-32.1

Ácido pantoténico	27.7-71.3
Biotina	0.16-0.60
Inositol	4,627-9,270
Colina	1,279-1,700
ácido p-aminobenzoico	0.75
Ácido fólico	0.50-1.46
Vitamina B ₁₂	0.005
Vitamina E (tocoferoles)	149.2

Tabla 2.7. Contenido de vitaminas en el salvado de arroz (Barber y Benedito-de-Barber, 1977)

II.3. ACEITE DE SALVADO DE ARROZ

II.3.1. Características y composición

El salvado contiene el 80% de la grasa total del arroz, con porcentajes muy variables, debido principalmente a las variedades existentes en México, así como en la forma en que se pila y se extraiga el arroz. Algunas de las características del aceite de salvado de arroz se dan en la Tabla 2.8.

Densidad a 25 °C	0.916-0.921
Índice de yodo	99-108
Índice de saponificación	181-189
Insolubles en acetona	0.05
Estabilidad	20

Tabla 2.8. Características del aceite de salvado de arroz (Primo, 1982)

Los datos publicados sobre la composición en ácidos grasos del aceite de salvado son extremadamente dispares (Tabla 2.9).

ÁCIDO GRASO	CONTENIDO *
Láurico	Trazas
Mirístico	< 1
Palmitico	12-18
Palmitoléico	Trazas
Esteárico	1-4
Oleico	40-50
Linoleico	16-38
Linolénico	< 6
Araquidónico	<1

* g de ácido graso/100 g de ácidos grasos totales

Tabla 2.9. Contenido de ácidos grasos en el aceite del salvado (Primo, 1982)

El contenido de ácidos grasos en el aceite de salvado de arroz de algunas variedades presentes en México, está reportado por Delgado y col. (1984) y presentado en la Tabla 2.10.

VARIEDADES	ÁCIDOS GRASOS					
	Palmitoléico %	Palmitico %	Esteárico %	Oleico %	Linoleico %	Linolénico %
Grijalva	0.34	15.65	1.24	43.27	35.88	3.61
Morelos A-70	0.75	22.26	1.79	43.47	29.50	2.24
Navolato A-71	0.41	19.04	2.14	42.31	33.25	2.85
Bamoá A-75	0.40	17.36	1.74	41.46	36.72	2.34
Sinaloa A-80	0.98	18.63	1.63	45.10	30.72	2.94
CIAS-33 CUV-81	0.31	21.89	1.40	41.93	32.45	2.02
Piedras Negras A-74	0.37	18.18	1.84	49.59	27.55	2.48
Joachin A-74	0.40	13.15	3.87	50.42	30.82	1.34
Juchitán A-74	1.23	20.31	1.85	44.62	30.77	1.23
Huastecas A-80	0.77	16.60	3.47	48.65	30.50	1.74
Macuspana A-75	0.24	17.26	1.30	45.78	33.06	2.35
Cárdenas A-80	0.41	17.70	1.80	36.97	40.25	2.87
Champoton A-80	0.71	16.08	1.89	41.47	37.83	2.13
Campeche A-80	0.74	16.27	1.85	44.36	35.45	1.48

Tabla 2.10. Ácidos grasos presentes en el aceite de salvado de arroz (Delgado y col., 1984)

La presencia de fosfolípidos, incluyendo fosfatidiletanolamina y fosfatidilinositol, ha sido demostrada en el aceite de salvado de arroz. Estos fosfolípidos son grasas complejas, triglicéridos, que contienen un grupo de ácido fosfórico y una base nitrogenada. Su presencia en el aceite implica la aceptación de este producto en términos nutrimentales. Además de los ácidos grasos, existen otros compuestos importantes como el tocoferol (vitamina E) y el "oryzanol", este último se obtiene por lavados con álcali del aceite crudo. El aceite crudo contiene 2-3% de oryzanol. Esta sustancia tiene un efecto parecido a la vitamina E, ya que facilita la circulación de la sangre y estimula la secreción hormonal (Primo, 1982).

Oka, Kiriya y Yoshida (1972) reportaron que en el aceite de arroz se ha encontrado un contenido de esteroides superior al 5% y el β -sitosterol es el más abundante. Los esteroides se encuentran en la fracción insaponificable de los aceites. Su recuperación es importante porque constituye la materia prima para la síntesis de hormonas sexuales y preparación artificial de la vitamina D. Esta vitamina es necesaria para la formación normal de los huesos y para la absorción de calcio y fósforo, también protege los dientes y huesos contra los efectos del bajo consumo de calcio.

II.4. EXTRUSIÓN

La extrusión es una operación unitaria que consiste en introducir un material termoplástico a un aparato generador de presión y temperatura, el cual causa que el producto se mueva como un fluido en un flujo laminar a través del equipo (Sánchez-Tovar y col., 1993).

II.4.1. Fundamentos de la operación de extrusión

La presión y temperatura que provocan el flujo del material pueden ser causadas por un número de mecanismos, incluyendo pistones y rodillos. Aunque éstos son utilizados en muchos casos, el uso de tornillos es más importante. Los tornillos no sólo movilizan el producto hacia adelante, generando presión y aumento de temperatura por la conversión de energía mecánica a calorífica, sino que también mezclan el producto, ayudando a la generación y transferencia de calor y a la texturización y homogeneización del material (Fig. 2.2).

El producto contenido en el canal de un tornillo rotatorio se sujeta a un esfuerzo cortante ("shear stress" en inglés o cizalla, en español de España), por la adherencia que tiene a las dos superficies (tornillo y barril que contiene al tornillo) y que se mueven una respecto de la otra. La velocidad de flujo del producto en el canal varía de cero (en el barril) a un máximo en la superficie del tornillo, con este gradiente de velocidad, las capas del producto se deslizan unas sobre otras. A esto se le llama esfuerzo de "corte", un factor muy importante en el proceso de extrusión usando tornillos. La rapidez o esfuerzo de "corte" es proporcional a la velocidad de rotación y diámetros del tornillo y el barril que lo contiene e inversamente proporcional a la profundidad del canal (espacio entre los álabes del tornillo y la superficie del barril).

El esfuerzo de "corte" hace que un producto termoplástico (como lo son casi todos los alimentos, puesto que contienen proteínas y/o hidratos de carbono y/o grasas) se estire, acelerando las reacciones químicas de sus componentes, alineando las moléculas de

cadena larga y despolimerizando sus componentes (en el caso del salvado de arroz, se buscaría la inactivación de las enzimas que degradan las grasas). La energía es consumida por reacciones endotérmicas como la gelatinización de los almidones o la desnaturalización de las enzimas y por el aumento de la temperatura del producto.

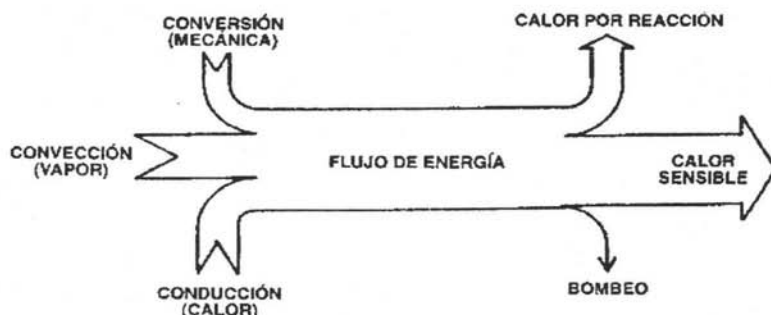


Fig. 2.2. Flujo de energía en la extrusor (Sánchez-Tovar y col., 1993)

La energía mecánica (conversión) se genera por el esfuerzo de "corte". Los productos termoplásticos alimenticios trabajados por extrusión son de naturaleza viscosa y resisten los esfuerzos de "corte" generando fuerzas de fricción entre las capas en movimiento del producto. Para sobrepasar estas fuerzas se requiere energía, la cual se convierte en calor en el producto. La energía resultante en el producto es proporcional a la viscosidad del mismo, al cuadrado del diámetro del tornillo, al cuadrado de la velocidad rotacional del tornillo (en rpm) y a la longitud "mojada" del tornillo (la porción del tornillo que se encuentra "llena" con el material, ya que algunas porciones de los tornillos usados en la extrusión, como aquellas usadas en las zonas de alimentación, no están llenas y no representan esfuerzos de corte

considerables en el producto). La generación de energía es inversamente proporcional a la profundidad relativa del canal (profundidad dividida por el diámetro exterior del tornillo con respecto al diámetro interior del barril). Todas estas variables y sus interrelaciones se obtienen experimentalmente por lo que son empíricas (Sánchez-Tovar y col., 2000).

II.4.2. Componentes del proceso de extrusión

El extrusor básico de tornillo, consiste en un tornillo o tornillos rotando en un barril al cual encajan casi exactos, siendo movilizados por un motor a través de una transmisión para reducir o variar la velocidad. El producto emerge por una boquilla (conocida como “dado” por el inglés “die”), que puede tener orificios o ranuras del tamaño adecuado para cada aplicación en particular. En esta investigación se usó una boquilla “cónica” (donde el producto sale por una “dona”). Al otro extremo del barril hay una chumacera principal que da soporte al tornillo y un orificio en el barril (cuello de alimentación), a través del cual el producto se alimenta al tornillo. El ensamble total se mantiene en una alineación rígida por medio de una base firme (Fig. 2.3a).

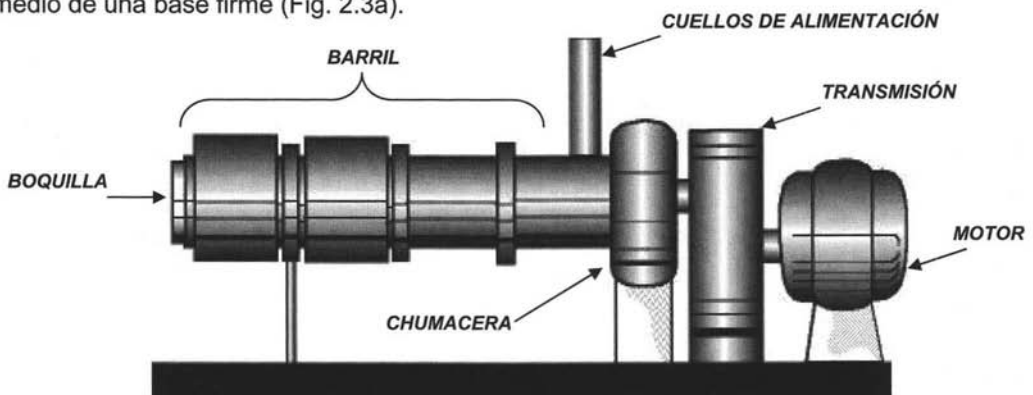


Fig. 2.3a. Diagrama esquemático de un extrusor (Sánchez-Tovar y col., 1993)

Típicamente, el tornillo está montado en un eje, en donde se encuentra engranado por llaves (Fig. 2.3b). El barril puede tener una cubierta reemplazable, endurecida, y por la parte interior puede ser liso o con ranuras (para afectar el flujo y generación de calor). Los segmentos del barril están unidos entre sí con abrazaderas (como se muestra) o con pernos para asegurarlas. Frecuentemente hay canales barrenados a través del barril para flujo de fluidos que transfieren calor, o se pueden utilizar calentadores externos separados.

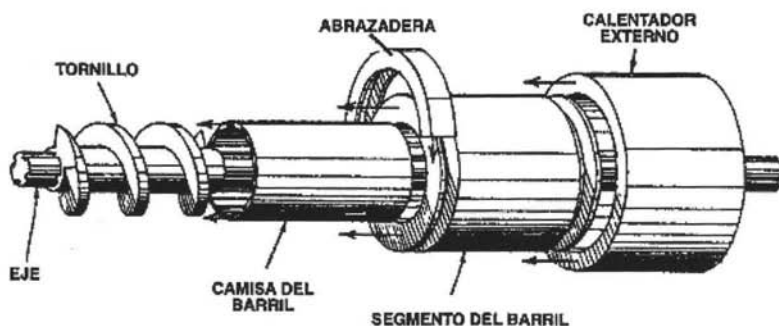


Fig. 2.3b. Diagrama esquemático del sistema barril-tornillo de un extrusor
(Guerra-Vargas, 1978)

La rotación de tornillo y la generación de presión fuerzan al tornillo hacia atrás, eliminando la necesidad de asegurar los elementos del tornillo. Esta fuerza, sin embargo, debe ser opuesta por una chumacera pesada. La chumacera está separada del producto, que es frecuentemente abrasivo, por un sello aparte (Fig. 2.4).

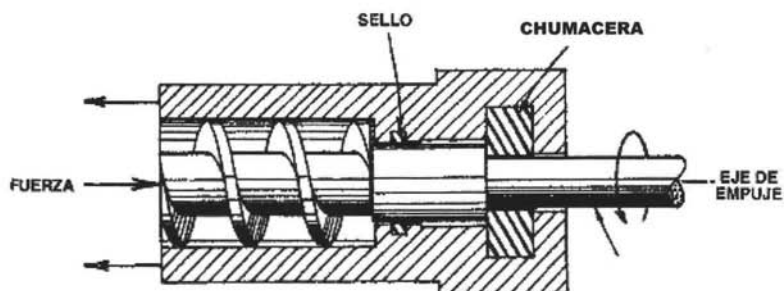


Fig. 2.4. Diagrama esquemático del soporte del tornillo de un extrusor y del sistema de rotación (Guerra-Vargas, 1978)

Al otro extremo de extrusor se encuentra ensamblada una boquilla que normalmente está sujeta al barril o, simplemente, a la boquilla de salida. En muchos casos, se introducen partes que se pueden reemplazar para crear los orificios en las boquillas.

El extrusor que se emplea es uno conocido como de bajo costo o "CIATECH", desarrollado por el Centro de Investigaciones y Asistencia Tecnológica del Estado de Chihuahua, originalmente dependiente del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología de México. Una descripción más detallada de su operación se presenta en la literatura (Sánchez-Tovar y col., 1993).

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA

III.1. ACTIVIDADES

Para lograr los objetivos planteados en el punto I.1, se hizo una revisión bibliográfica para recabar la información necesaria, como las características de la muestra y lo que en ella se estudia.

Las actividades para llevar a cabo la investigación fueron:

- Obtención de las muestras del salvado de arroz de un beneficio comercial del Estado de Morelos y del INIFAP.
- Caracterización química del salvado de arroz (acidez titulable, índice de saponificación, por ciento de ácidos grasos libres y gramos de ácidos grasos).
- Montaje de las metodologías analíticas de determinación de actividad de lipasas (medición indirecta, mediante determinación calorimétrica de ácidos grasos libres, técnica de Lowry).
- Experimentación específica de extrusión del salvado de arroz para minimizar la actividad enzimática, modificando el pH.

III.1.1. Materias primas y reactivos

Se utilizó salvado de arroz proveniente de un beneficio comercial del Estado de Morelos, el cual fue caracterizado físicamente por medio de un muestreo tipo "Military standard" (Fabila, 1991).

Se utilizaron reactivos grado analítico para toda la experimentación: HCl, Ca(OH)₂,

solución amortiguadora ("buffer"): Tris-HCl 0.05M, pH 7.5, 1% [v/v] de Tritón X-100 como detergente, reactivo de cobre: Acetato cúprico en agua, ajustado a pH de 6.1 por adición de piridina y, como disolvente, se usó éter etílico.

III.2. METODOLOGÍA ANALÍTICA

III.2.1. Medición del incremento de ácidos grasos libres

Se determinó la cantidad de ácidos grasos libres (AGL) liberados en las muestras extrudidas y un control de salvado sin extrudir, luego de haber sido almacenadas por 100 días a temperatura ambiente (20 a 28°C y humedad relativa cercana a 80%). La metodología empleada consistió en la extracción de los AGL del salvado por medio de un solvente y la posterior adición de un reactivo de cobre que provoca la generación de un compuesto colorido entre los ácidos grasos libres y acetato cúprico (Figura 3.1), que puede ser leído por el espectrofotómetro (Lowry y Tinsley, 1976). La metodología planteada por estos autores, que considera el seguimiento del incremento de AGL en cuestión de minutos para medir la actividad enzimática, fue modificada para realizar ensayos de medición del incremento de AGL en cuestión de días. Esto se hizo con la adición de soluciones amortiguadoras y eliminando la incubación de las muestras.

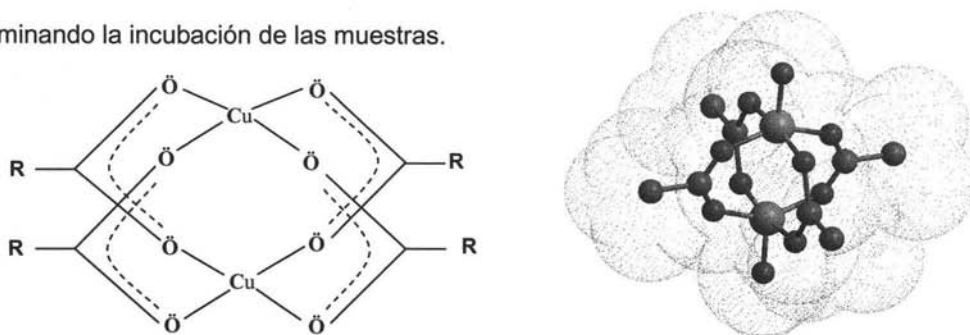


Figura 3.1. Complejo formado entre los AGL y el acetato cúprico

De acuerdo con los autores mencionados, este complejo tiene un máximo de absorción a una longitud de onda, λ , de 715 nm, usando como solvente iso-octano. También es importante mencionar que se adicionó HCl durante los ensayos realizados para medir la actividad enzimática, para inactivar la reacción y para ionizar los grupos ROOH (ROO-) y así facilitar la formación del complejo. En esta investigación se empleó éter etílico como solvente, debido a que era menos tóxico, más económico y se consumía un volumen menor. Se realizó un ensayo para determinar el máximo de absorción (λ) del complejo en éter etílico y corroborar si era similar al reportado.

III.2.2. Metodología experimental

1. Se mezclan 0.5 gramos de salvado con 0.4 mL de solución amortiguadora ("buffer") en un tubo de ensayo.
2. Se adiciona 0.3 mL de HCl 1N.
3. A la masa acidificada de le adicionan 5 mL de éter etílico y se agita por 3 minutos.
4. Se agregan 5 mL adicionales de éter etílico y se agita.
5. Se toman 5 mL del solvente resultante y se mezclan con 2 mL del reactivo de cobre y se agita.
6. El color resultante se lee en el espectrofotómetro a 715 nm, según lo confirmado.
7. La concentración de AGL se determina con la curva estándar.

III.2.2.1. Justificación de la metodología empleada

Se realizaron ensayos con otro método, que es el más común para la medición de ácidos grasos libres, el cual consiste en la extracción del aceite y medir su acidez. Debido a

la cantidad de muestras que se trabajaron y a la cantidad de aceite necesario para realizar las pruebas con esta metodología, experimentos preliminares indicaron que no era posible realizar las pruebas necesarias para generar los resultados deseados. Por esta razón, la decisión final fue la de utilizar el método espectrofotométrico. Se concluyó con esto que, además de medir la cantidad de ácidos grasos, también se podría observar la actividad enzimática en forma indirecta por la concentración de ácidos grasos libres.

III.2.2.2. Cálculo del máximo de absorción del complejo

Con la finalidad de corroborar los datos reportados y verificar el comportamiento del complejo en éter etílico, se realizó un barrido en el espectrofotómetro de una muestra y se comparó con el barrido hecho con el solvente empleado (éter etílico). Ver Anexo 2. Se empleó un espectrofotómetro Spectronic D21.

III.2.2.3. Equipo de extrusión

El equipo empleado es un extrusor de una sola flecha con una boquilla cónica a la salida que regula la presión al interior de la última etapa de extrusión. Este extrusor ha sido modificado en el Laboratorio de Ingeniería Química de la Facultad de Química de la UNAM, adaptándole dos resistencias de banda, controladas por "termopares", termostatos y pirómetros electrónicos en un tablero de control para mantener un control más uniforme de la temperatura del equipo. La velocidad de rotación del tornillo se mantuvo constante y se llevaron a cabo experimentos considerando un calentamiento adicional conocido, así como experimentos en los que se emplearon solamente el calor generado por la fricción del

material con las paredes del tornillo y el barril. La relación L:D del tornillo y la velocidad rotacional del tornillo son características fijas de este sistema y se encuentran ya publicadas (Sánchez-Tovar y col., 1993). Para estos experimentos se fijaron como constantes la presión interna en la sección de extrusión (final del tornillo) (65.0 bar), la velocidad rotacional del tornillo (750 rpm) y la abertura de la boquilla (5.0 mm).

III.3. EXPERIMENTACIÓN

III.3.1. Preparación de la materia prima

Las muestras de salvado fueron pesadas hasta obtener muestras de $2,000.0 \pm 1.0$ g y el hidróxido de calcio, $\text{Ca}(\text{OH})_2$, o el HCl se "disolvieron" en agua para obtener una "lechada" y una solución. Posteriormente, el salvado y las diferentes "soluciones" se mezclaron uniformemente en una mezcladora tipo "Komax" de doble hélice a una velocidad de 70 rpm, durante 10 minutos hasta obtener una muestra uniforme (por observación con un juego de lentes de 500 aumentos). Las muestras fueron almacenadas en bolsas de polietileno negro para protegerlas de la acción de la luz y a 4°C para retardar las reacciones de rancidez oxidativa y, a la vez, facilitar la total difusión del agua y de los iones Ca^{2+} , OH^- y H^+ a través de la materia sólida.

III.3.2. Variables de operación en el extrusor

Las variables a controlar fueron la humedad de las mezclas de salvado de arroz, desde 20 hasta 40% de humedad en base seca (b.s.) y las concentraciones de hidróxido de

calcio Ca(OH)_2 y HCl en base seca (1, 5 y 10%, b. s.). Éstas se trabajaron por pares combinados en diseños experimentales factoriales 3 x 3 de superficie de respuesta (Montgomery, 2002).

El diseño final del experimento fue el siguiente para las muestras testigo:

T1= Salvado sin extrudir

T2= Salvado extrudido sin adición de agua (humedad de 14.2)

H1= Salvado extrudido con 20% Humedad b.s.

H2= Salvado extrudido con 30% Humedad b.s.

H3= Salvado extrudido con 40% Humedad b.s.

Para las muestras de salvado extrudido con "solución" de Ca(OH)_2

C1= 1% Ca(OH)_2 b.s.

H1= 20% Humedad b.s.

C2= 5% Ca(OH)_2 b.s.

H2= 30% Humedad b.s.

C3= 10% Ca(OH)_2 b.s.

H3= 40% Humedad b.s.

Para las muestras de salvado extrudido con "solución" de HCl

C1= 1% HCl b.s.

H1= 20% Humedad b.s.

C2= 5% HCl b.s.

H2= 30% Humedad b.s.

C3= 10% HCl b.s.

H3= 40% Humedad b.s.

Para las muestras extrudidas se obtuvo un diseño factorial de nueve muestras por duplicado

(Fabila, 1991):

C1H1 C2H1 C3H1

C1H2 C2H2 C3H2

C1H3 C2H3 C3H3

A todos los datos experimentales que se obtuvieron se les realizó el análisis de varianza (andeva) para corroborar las diferencias significativas entre los datos. Las muestras ya extrudidas y testigos fueron almacenados en el laboratorio a condiciones no controladas de temperatura y humedad relativa (25 ± 3 °C, HR entre 70 y 90 %). Se obtuvieron 3 testigos

extrudidos (con humedades de 20, 30 y 40% b.s.), un testigo de salvado extrudido sin adición ni de agua, ni de HCl o $\text{Ca}(\text{OH})_2$ (T2) y un testigo sin extrudir (T1).

A las muestras extrudidas, así como a los testigos, se les determinó la cantidad de ácidos grasos libres comenzando desde el primer día, hasta 98 días, con el fin de observar el grado de deterioro, para evaluar la eficiencia del método de estabilización.

III.3.3. Diagrama de flujo del proceso de experimentación

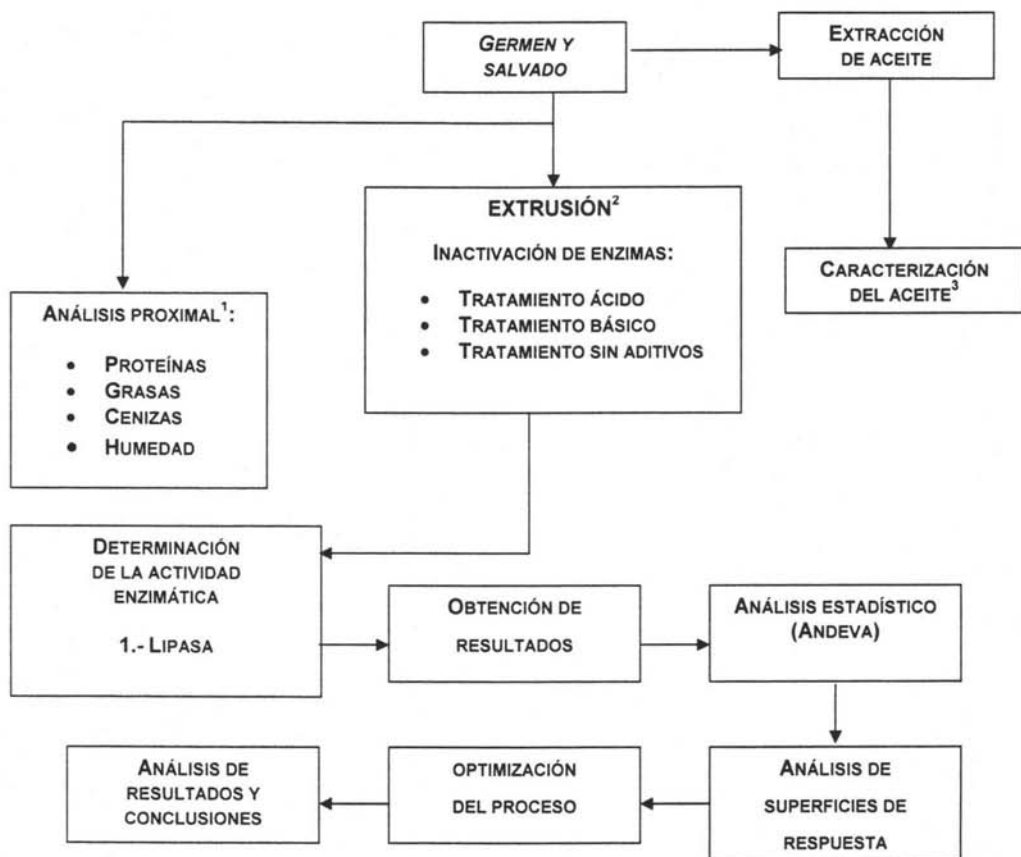
A continuación, en la Figura 3.2 se presenta el diagrama de flujo de los experimentos realizados.

III.4. DISEÑO DE SUPERFICIE DE RESPUESTA

La metodología de superficie de respuesta, MSR, es una colección de técnicas matemáticas y estadísticas útiles en el modelado y el análisis de problemas en los que una respuesta de interés recibe la influencia de diversas variables y donde el objetivo es optimizar esta respuesta. En este caso, se quieren encontrar los niveles de concentración óptimos de HCl o $\text{Ca}(\text{OH})_2$ (x_1) y humedad (x_2) que minimicen la formación (y) de ácidos grasos. El rendimiento del proceso es una función de los niveles de la concentración y la humedad y la función que los define es:

$$y = f(x_1, x_2) + \varepsilon \quad (3-1)$$

donde ε representa el ruido o error observado en la respuesta y . La respuesta esperada se denota por $E(y) = f(x_1, x_2) = \eta$. La superficie está representada por $\eta = f(x_1, x_2)$, que se conoce como superficie de respuesta.



¹ Proteínas. NMX-F-068-1980. ALIMENTOS. Determinación de proteínas

Grasas. NMX-F-089-S-1978. DETERMINACIÓN DE EXTRACTO ETÉREO (MÉTODO SOXHLET) EN ALIMENTOS

Cenizas. NMX-F-066-S-1978. DETERMINACIÓN DE CENIZAS EN ALIMENTOS

Humedad. NMX-F-83-1986. ALIMENTOS. DETERMINACIÓN DE HUMEDAD EN PRODUCTOS ALIMENTICIOS

² Extrusión del salvado con tratamiento químico por aspersion ácida (HCl), básica (NaOH) y sin aditivos

³ Caracterización del aceite mediante índice de saponificación, acidez titulable, porcentaje de ácidos grasos libres, gramos de ácidos grasos, Manual de laboratorio de análisis fisicoquímico de alimentos (Iturbe y Valdivia, 1994)

Figura 3.2. Diagrama de flujo de los experimentos realizados

Por lo general, la superficie de respuesta se representa gráficamente, donde η se grafica contra los niveles de x_1 y x_2 , para ayudar a visualizar la forma de una superficie de respuesta. Con frecuencia se grafican los contornos de la superficie de respuesta. En la gráfica de contorno se trazan las líneas de respuesta constante en el plano x_1, x_2 . Cada contorno corresponde a una altura particular de la superficie de respuesta.

En la mayoría de los problemas MSR, la forma de la relación entre la respuesta y las variables independientes es desconocida. Por lo tanto, el primer paso de la MSR es encontrar una aproximación adecuada de la verdadera relación funcional entre y y el conjunto de variables independientes. Por lo general, se emplea un polinomio de orden inferior en alguna región de las variables independientes. Si la respuesta está bien modelada por una función lineal de las variables independientes, entonces la función de aproximación es el modelo de primer orden:

$$y = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \dots + \beta_k x_k + \varepsilon \quad (3-2)$$

Si hay una curvatura en el sistema, entonces debe usarse un polinomio de orden superior, como el modelo de segundo orden

$$y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i x_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} x_i^2 + \sum_{i < j} \beta_{ij} x_i x_j + \varepsilon \quad (3-3)$$

En casi todos los problemas MSR se usa uno de estos modelos o ambos. Desde luego, es probable que un modelo polinomial sea una aproximación razonable de la verdadera relación funcional en el espacio completo de las variables independientes, pero para una región relativamente pequeña estos dos suelen funcionar bastante bien. El método

de mínimos cuadrados, se usa para estimar los parámetros de los polinomios de aproximación. Después se realiza el análisis de la superficie de respuesta utilizando la superficie ajustada. Si la superficie ajustada es una aproximación adecuada de la verdadera función de la respuesta, entonces el análisis de la superficie ajustada será un equivalente aproximado del análisis del sistema real. Los parámetros del modelo pueden estimarse de manera más eficiente cuando se emplean los diseños experimentales apropiados para recolectar los datos.

La MSR es un procedimiento secuencial. Muchas veces, cuando se está en un punto de la superficie de respuesta que está apartado del óptimo, el sistema representa una curvatura moderada y el modelo de primer orden será apropiado. El objetivo en este caso es llevar al experimentador de manera rápida y eficiente por la trayectoria del mejoramiento hasta la vecindad general del óptimo. Una vez que se ha encontrado la región del óptimo, puede emplearse un modelo más elaborado, como el de segundo orden y llevarse a cabo un análisis para la localizar el óptimo. El análisis de una superficie de respuesta puede considerarse como el ascenso a una colina, donde la cima representa el punto de la respuesta máxima. Si el verdadero óptimo es un punto de respuesta mínima, entonces la situación puede considerarse como el descenso a un valle.

El objetivo último de la MSR es determinar las condiciones de operación óptimas del sistema o determinar una región del espacio de los factores en la que se satisfagan los requerimiento de operación.

En la Tabla 3.1 se muestran los valores de pH, que corresponden a las diferentes concentraciones de HCl y Ca(OH)₂ adicionadas en cada ensayo realizado. La forma de realizar la medición del pH se presenta en el Anexo 2.

CONCENTRACIÓN	CODIFICACIÓN DE LAS MUESTRAS	pH
Sin HCl o Ca(OH) ₂	Sin extrudir	6.90
Sin HCl o Ca(OH) ₂	Muestras control	6.90
1% HCl	C1	6.46
5% HCl	C2	4.45
10% HCl	C3	2.22
1% Ca(OH) ₂	C1	6.99
5% Ca(OH) ₂	C2	8.70
10% Ca(OH) ₂	C3	9.44

Tabla 3.1. Valores de pH correspondientes a las diferentes concentraciones de HCl y Ca(OH)₂ adicionadas para cada ensayo

Para analizar los datos se utilizaron los programas MINITAB, EXCEL y STATISTICA. Se graficaron los datos para observar, tanto el deterioro de las muestras como los puntos óptimos de estimación en el análisis de superficies. Asimismo, para estimar los parámetros del óptimo se utilizó el método de mínimos cuadrados.

En el Anexo 1 se presenta un archivo fotográfico de los equipos utilizados en laboratorio, en el beneficio de arroz, de los granos, de los subproductos y de la preparación de las muestras extrudidas.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

IV.1. Análisis proximal

Se realizó el análisis proximal de las muestras de salvado del beneficio de arroz del Estado de Morelos, así como la refinación del aceite extraído de la muestra inicial para su caracterización. Las técnicas analíticas como ya se mencionó en el capítulo anterior, fueron tomadas de las Normas Oficiales Mexicanas. Los resultados se expresan en la Tabla 4.1.

DETERMINACIÓN	RESULTADOS (%)
Humedad	14.20
Cenizas	5.47
Extracto etéreo	9.15
Fibra cruda	8.34
Proteína	11.43
Carbohidratos (por diferencia)	51.41

Tabla 4.1. Análisis proximal del salvado de arroz

IV.2. ANÁLISIS QUÍMICO DEL ACEITE DE SALVADO

Al aceite de salvado de arroz se le realizó índice de saponificación, acidez titulable % de ácidos grasos libres y gramos de ácidos grasos libres, la tabla 4.2 muestra los resultados del análisis químico del aceite de salvado de arroz.

Como no existe un parámetro comercial de comparación para un producto como éste, se tomó como referencia al aceite de cártamo debido a que es el más comercial. Tomando como referencia a la norma NMX-F-161-1985 ACEITE COMESTIBLE PURO DE CÁRTAMO, se observa que las características del aceite de salvado de arroz son aptas para el consumo humano. El índice de saponificación cae dentro del intervalo de la norma y la acidez titulable como ácido oleico es ligeramente menor a la norma.

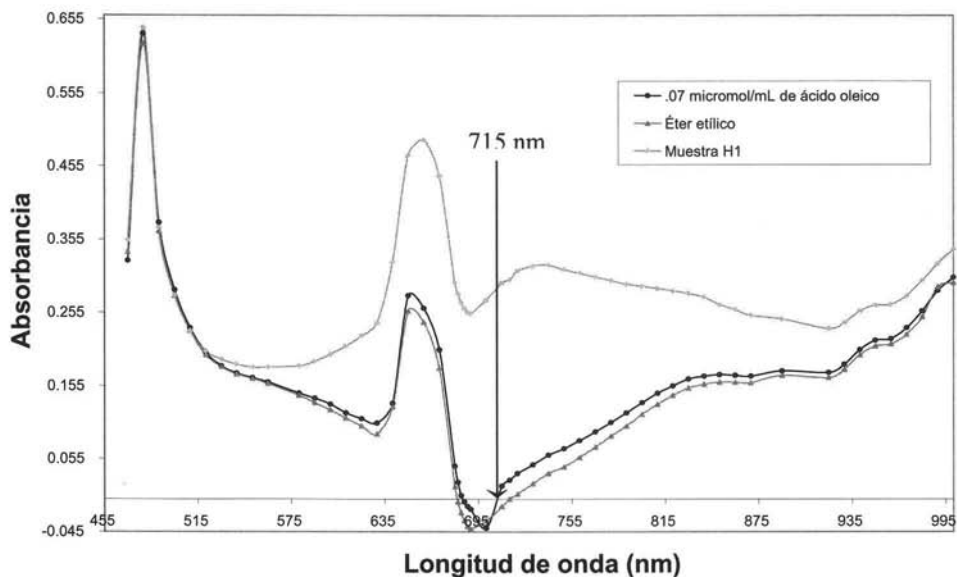
ANÁLISIS	ACEITE DE SALVADO DE ARROZ	ACEITE DE CÁRTAMO
Índice de saponificación (mg de KOH/g de aceite)	191.43	186 mín. - 198 máx.
Acidez titulable	0.0499	0.05 máx.
% de ácidos grasos libres	0.0251	No reporta
gramos de ácidos grasos	0.0001302 g de ácido oleico	No reporta

Nota: Los resultados son el promedio de 3 réplicas

Tabla 4.2. Análisis químico del aceite

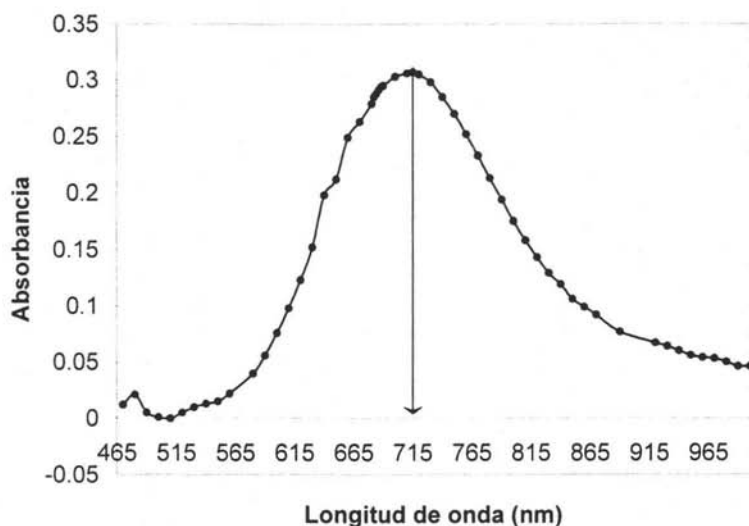
IV.3. ANÁLISIS ESPECTROFOTOMÉTRICO

Se realizó un barrido espectrofotométrico para determinar la longitud de onda en que debían tratarse las muestras. Los resultados se muestran en la Gráfica 4.1.



Gráfica 4.1. Barrido espectrofotométrico de la muestra H1, un estándar de ácido oleico y un estándar del solvente (éter etílico)

La longitud de onda máxima se obtiene a los 660 nanómetros. Como a esa longitud de onda también absorbe el éter, para evitar la interferencia del disolvente se utilizó el punto donde la longitud de onda del éter es igual a cero quedando en 715 nanómetros (nm) para las lecturas de las muestras, confirmando con la Gráfica 4.2 estos resultados. En ella se muestra el máximo de absorbancia, que es de 715 nm (para obtener esta grafica se le restó la absorbancia del éter al estándar).



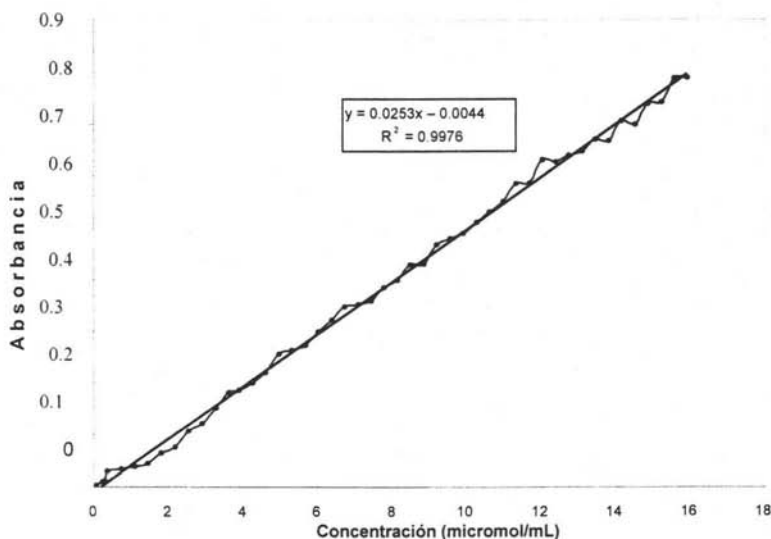
Gráfica 4.2. Barrido espectrofotométrico de un estándar sin considerar el solvente

Para determinar la concentración de ácidos grasos libres presentes en cada una de las muestras se construyó la curva estándar que se presenta en la Gráfica 4.3.

IV.4. EXTRUSIÓN DE LAS MUESTRAS

De los ensayos realizados con el extrusor, en los que se alimentaron muestras de salvado de arroz fresco, adicionadas con agua hasta alcanzar 20, 30 y 40% de humedad, se observa que la humedad es un factor importante en la fase técnica de extrusión. Cuando se

extrudieron las muestras de mayor contenido de humedad (40%), pudo corroborarse que las muestras fluyen más fácilmente con la presencia de más agua, mientras que a valores menores de humedad (20%) las muestras tienen dificultad para salir de la boquilla del extrusor.



Gráfica 4.3. Curva estándar para determinar la concentración de ácidos grasos libres

Puede observarse que, a menor humedad, el tiempo de residencia de las muestras en el extrusor es mayor ya que el agua está actuando como un “lubricante” que reduce el tiempo de residencia real en el interior del extrusor.

En la Tabla 4.3 se observan los datos obtenidos de los ensayos de las muestras extrudidas después de haber realizado la determinación de ácidos grasos. Es claro el efecto del valor de pH sobre la cantidad de AGL presentes en las muestras.

Cada vez que se realizaba la extracción de ácidos grasos del salvado de arroz estabilizado se hacían por triplicado las lecturas, dejándose muestras para leerlas

posteriormente, con el fin de que no existiera variabilidad en la concentración de los ácidos grasos extraídos.

El valor de pH dependió de las concentraciones de HCl o de Ca(OH)₂, como se vio en el capítulo de metodología (Tabla 3.1).

Muestras	Absorbancia	Concentración de ácidos grasos libres (micromol/mL)	Gramos de ácidos grasos libres/gramos de salvado	% de ácidos grasos libres	pH
S extrudir	0.026	0.2485	0.0014	0.1403	6.9
Testigo	0.025	0.2396	0.0013	0.1354	6.9
H1 (20%)	0.029	0.2749	0.0016	0.1553	6.8
H2 (30%)	0.079	0.7154	0.0040	0.4042	6.6
H3 (40%)	0.04	0.3718	0.0021	0.2101	6.9
HCl					
C1H1 (1%)	0.045	0.4159	0.0023	0.2350	6.66
C1H2	0.027	0.2573	0.0015	0.1454	6.29
C1H3	0.028	0.2661	0.0015	0.1503	6.44
C2H1 (5%)	0.035	0.3278	0.0019	0.1852	4.65
C2H2	0.020	0.1956	0.0011	0.1105	4.36
C2H3	0.010	0.1075	0.0006	0.0607	4.35
C3H1 (10%)	0.008	0.0899	0.0005	0.0508	2.43
C3H2	0.004	0.0546	0.0003	0.0309	2.19
C3H3	0.010	0.1075	0.0006	0.0607	2.04
Ca(OH) ₂					
C1H1 (1%)	0.0490	0.4511	0.0025	0.2549	7.07
C1H2	0.0520	0.4775	0.0027	0.2698	7.01
C1H3	0.0590	0.5392	0.0030	0.3047	6.9
C2H1 (5%)	0.0870	0.7859	0.0044	0.4440	8.05
C2H2	0.1290	1.1559	0.0065	0.6531	8.72
C2H3	0.1840	1.6405	0.0093	0.9269	9.34
C3H1 (10%)	0.0950	0.8564	0.0048	0.4839	9.64
C3H2	0.0870	0.7859	0.0044	0.4440	8.76
C3H3	0.0940	0.8476	0.0048	0.4789	9.93

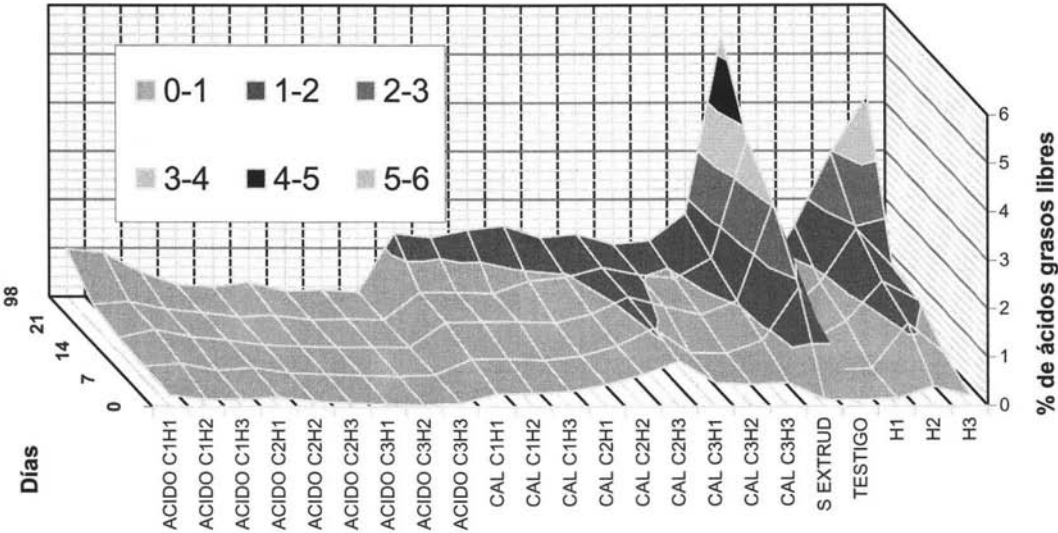
Nota: Los resultados son el promedio de 3 réplicas

Tabla 4.3. Análisis químicos de las muestras de salvado extrudidas (correspondientes al día cero, antes del inicio de la oxidación enzimática)

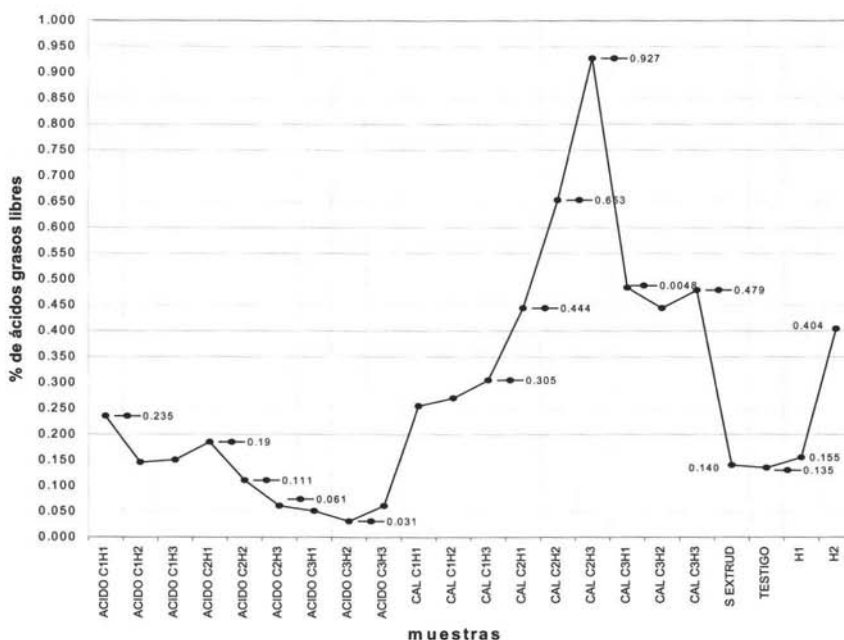
De acuerdo con las características de las lipasas estudiadas era esperable que las muestras que se encontraran entre valores de pH de 5 a 9.5 (que corresponden a 1% de HCl

a los testigos y a 1, 5 y 10% de $\text{Ca}(\text{OH})_2$) fueran las que tuvieran menos estabilidad después de la extrusión, con un máximo de deterioro a valores de pH entre 7.5 y 8, que corresponden a las muestras con concentraciones de 1 y 5% de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ (ver Gráfica 4.4a)

Como se observa en la Gráfica 4.4a, el mejor tratamiento se obtiene con una concentración de 10% b.s., de HCl y con una humedad de 40%, ya que se comprueba que bajando el pH a un valor ácido la lipasa sufre desactivación, que logra que el deterioro del salvado sea lento, lo cual permitiría conservar el salvado de arroz hasta 98 días en almacenamiento. El salvado de arroz sin estabilizar difícilmente se puede mantener almacenado, a no ser que se emplee inmediatamente después de su separación del grano. Su deterioro es rápido y su utilización debe ser inmediata. De no ser así, se corre el riesgo de tener como resultado bajos rendimientos en el proceso de neutralización o aceite en mal estado el cual podría ser no apto para el consumo humano.



Gráfica 4.4a. Muestras extrudidas vs días y % de AGL (Vista en tres dimensiones)



Gráfica 4.4b. Muestras extrudidas vs % de AGL (Vista en dos dimensiones, día 0 de almacenamiento)

En la Gráfica 4.4a. se observa el incremento en la concentración de ácidos grasos versus tipo de muestra (en el tiempo de almacenamiento de cero a 98 días). La concentración de ácidos grasos permanece casi constante en las muestras tratadas con ácido encontrándose éstas entre el intervalo de 0 a 0.005 g de ácidos grasos libres/g (0 hasta 1% de AGL) de salvado; no obstante, la muestra tratada con la concentración menor de ácido (1%), que tienen un pH de 6.3 a 6.7, no muestran estabilidad al final del periodo de almacenamiento (entre 0.26 y 0.982 % AGL).

En la Gráfica 4.4b se ve que las concentraciones de cal consideradas no inhibieron la formación de AGL sino que la favorecieron (Mc Call, 1953).

Las muestras extrudidas en condiciones básicas no presentan una eficiente estabilización ya que no permanecen constantes sus concentraciones de ácidos grasos libres durante el tiempo de almacenaje. Dentro de las muestras, la más representativa es C2H3 (ver Gráfica 4.4b) de Ca(OH)_2 (5% de cal y 40% de humedad), que desde el inicio presenta una concentración alta de ácidos grasos (con respecto a los tratados con ácido).

En la Gráfica 4.4b también se observa el efecto de que, al incrementarse la concentración de calcio proveniente del hidróxido de calcio, Ca(OH)_2 , las muestras presentan un deterioro mayor obteniéndose un máximo (de las muestras tratadas inicialmente) en C2H3, y conforme la concentración de calcio se incrementa el deterioro disminuye. Esto indicaría que, a relativamente bajas concentraciones de calcio, la actividad de la lipasa aumenta y empieza a reducirse a concentraciones más altas.

A condiciones ácidas se observa lo siguiente, los ácidos grasos son menores en C2H3, C3H1, C3H2 y C3H3, debido a que el tratamiento ácido induce inactivación de la lipasa disminuyendo con esto la concentración de ácidos grasos libres.

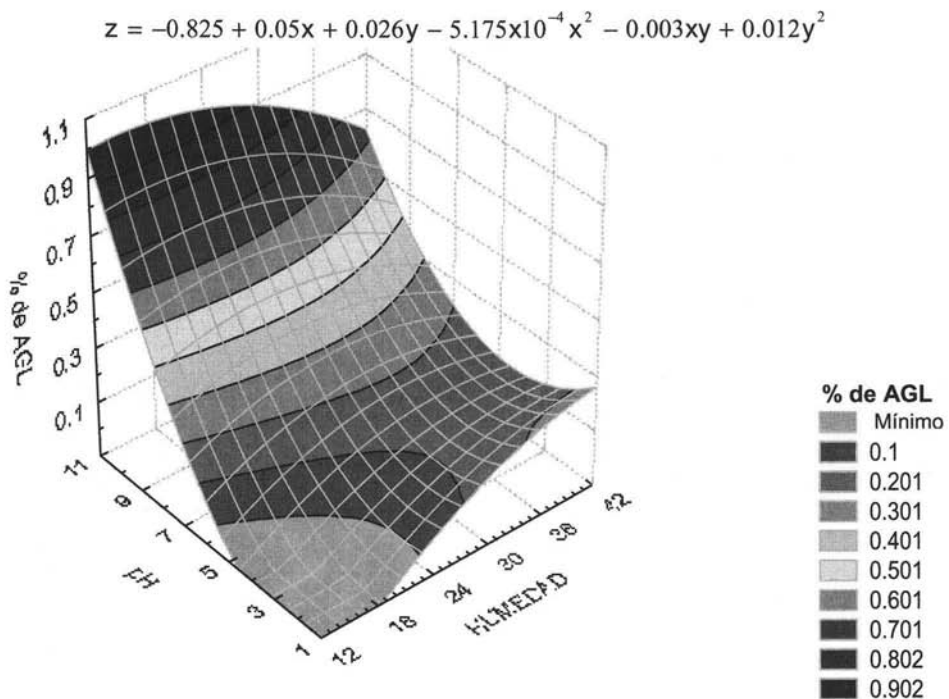
La muestra T1 (testigo sin extrudir) es la que menos estabilidad presenta y la que al cabo del tiempo es más susceptible al deterioro. Presenta el inicio de su deterioro a partir de los 7 días y se incrementa muy rápidamente conforme pasa el tiempo.

IV.5. EFECTO DEL VALOR DE pH Y DE LA HUMEDAD

La Gráfica 4.4c presenta el efecto del valor de pH y el contenido de humedad en la formación de AGL de las muestras extrudidas, se observa que conforme el pH de las

muestras y la humedad se incrementan, el deterioro es mayor (Tabla 4.5), el punto en donde existe el mínimo de AGL se encuentra entre el 12 a 22.5% de humedad a un pH entre 1 a 5.5 saliendo de estos parámetros el deterioro es mayor, por lo que tendremos que suponer que en la optimización del proceso, el óptimo deberá encontrarse en estos intervalos (estos datos se observan en la gráfica 4.4d).

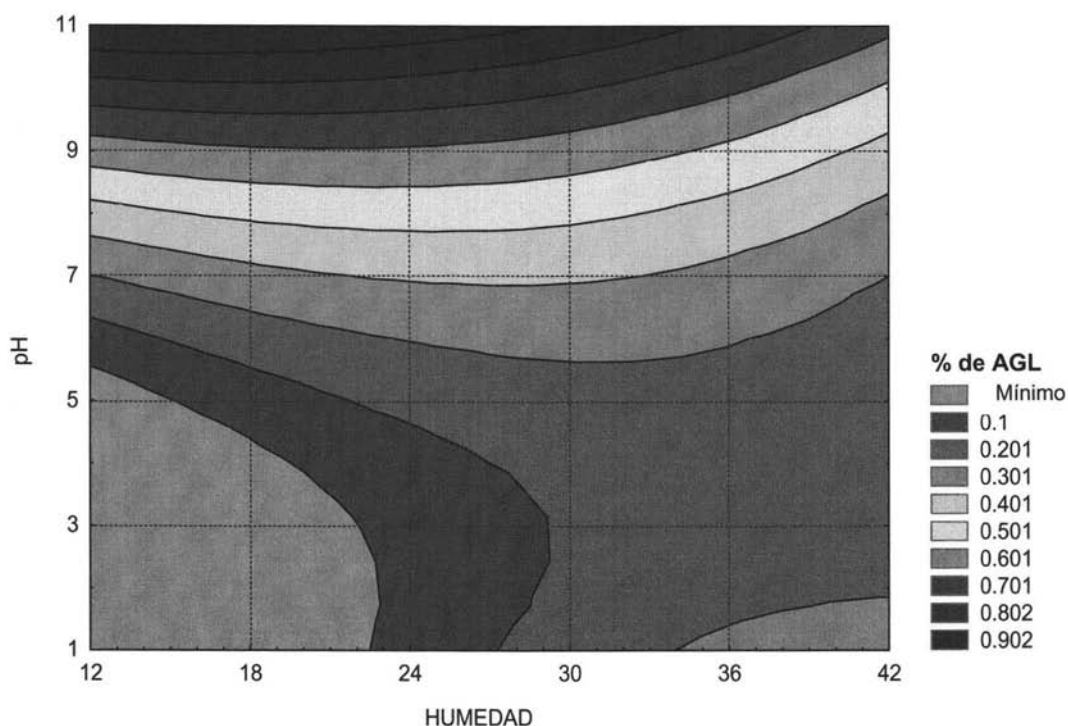
Las muestras testigo a las que sólo se les agregó agua H1 (20% humedad b.s.), H2 (30% humedad b.s.), H3 (40% humedad b.s.) y se les sometió a extrusión, presentan deterioro conforme se incrementa la humedad (Gráfica 4.4a), encontrándose el máximo deterioro a una humedad de 40% b.s. y 98 días de almacenamiento.



Gráfica 4.4c. Muestras extrudidas vs pH y % de AGL

N	Tratamiento	Humedad	Tratamiento químico		pH	% de ácidos grasos libres			
			[Ca(OH) ₂]	[HCl]		0 días	7 días	21 días	98 días
1	Sin extrudir	14.20			6.80	0.14	1.88	3.80	5.39 rancio
2	Extrudido	14.20			6.80	0.14	0.17	0.18	0.24
3	Extrudido	20			6.80	0.16	0.21	0.85	1.46
4	Extrudido	30			6.80	0.40	1.44	1.95	2.96
5	Extrudido	40			6.80	0.21	0.52	1.17	4.13
6	Extrudido	20	1		6.99	0.25	0.41	0.66	1.31
7	Extrudido	30	1		6.99	0.27	0.42	0.66	1.22
8	Extrudido	40	1		6.99	0.30	0.39	0.64	1.38
9	Extrudido	20	5		8.70	0.44	0.47	0.89	1.46
10	Extrudido	30	5		8.70	0.65	0.68	0.97	1.23
11	Extrudido	40	5		8.70	0.93	1.05	1.17	1.29
12	Extrudido	20	10		9.44	0.48	0.53	1.02	1.08
13	Extrudido	30	10		9.44	0.44	0.52	0.94	1.16
14	Extrudido	40	10		9.44	0.48	0.79	1.36	1.71
15	Extrudido	20		1	6.46	0.23	0.26	0.41	0.98
16	Extrudido	30		1	6.46	0.15	0.32	0.46	0.91
17	Extrudido	40		1	6.46	0.15	0.18	0.31	0.52
18	Extrudido	20		5	4.45	0.19	0.23	0.24	0.25
19	Extrudido	30		5	4.45	0.11	0.12	0.16	0.21
20	Extrudido	40		5	4.45	0.06	0.10	0.18	0.30
21	Extrudido	20		10	2.22	0.05	0.07	0.09	0.11
22	Extrudido	30		10	2.22	0.03	0.05	0.11	0.15
23	Extrudido	40		10	2.22	0.06	0.08	0.09	0.10

Tabla 4.5. Muestras considerando humedad, pH, % de ácidos grasos libres y tiempo almacenamiento



Gráfica 4.4d. Curva de contorno de humedad vs pH y % de ácidos grasos libres

IV.5.1. Análisis de varianza para determinar el efecto de la humedad y concentración del Ca(OH)_2 en los ácidos grasos libres

De acuerdo con el análisis de varianza realizado (Anexo 3), a niveles de significancia de 1 y 5% no se encontraron diferencia significativa entre la concentración de Ca(OH)_2 y la humedad que aporten un sentido significativo a los ensayos, no obstante con la diferencia mínima significativa se observa que entre las concentraciones así como con las humedades no existe diferencia significativa entre ellos, es decir, en las muestras extrudidas no es significativa la humedad ni la concentración, para el caso de la concentración C2 (5 % Ca(OH)_2) con respecto a C1 (1 % Ca(OH)_2), sí son diferentes. Esto significa que se puede

utilizar cualquier humedad o concentración y aunque en la parte experimental se apreciaba que la humedad facilita la extrusión, desde el punto de vista estadístico, los resultados indican que esta variable no afecta los datos de formación de AGL, por lo que se puede utilizar una humedad de 40%, ya que el tiempo de residencia dentro del extrusor es menor y facilita la salida de las muestras extrudidas.

IV.5.2. Análisis de varianza para determinar el efecto de la humedad y concentración del HCl en los ácidos grasos libres

Para el análisis de varianza de las muestras tratadas con HCl se muestra que la concentración (de 1, 5 y 10% de ácido) ni la humedad (de 20, 30 y 40% b.s.) tienen influencia en la formación de AGL, es decir no existe diferencia significativa entre las concentraciones de ácido. Asimismo, con la diferencia mínima significativa, DMS, se observa que las concentraciones si son diferentes, entre C1 (1%) con respecto a C2 (5%) y C3 (10%). No obstante, las humedades no son diferentes, H1 (20%) con respecto a H2 (30%) y H3 (40%). Lo que quiere decir es que puede utilizarse cualquier humedad y cualquier concentración de ácido para obtener la misma formación de AGL desde el punto de vista estadístico, pero con la recomendación de que las concentraciones son diferentes una de otra.

Se utilizó el paquete estadístico MINITAB, para graficar los valores de las diferentes combinaciones de las variables independientes. Ésta es una manera de localizar, con ayuda de gráficas, las combinaciones de los valores de las variables independientes con los cuales es posible encontrar los valores máximos y mínimos en la concentración de ácidos grasos libres del salvado de arroz.

Para evaluar la eficacia del diseño elegido, se realizó el análisis de varianza obteniéndose los siguientes resultados para las muestras extrudidas en medio básico:

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Distribución estadística (F)	Nivel de probabilidad (P)
Regresión	2	0.000007256	0.000003628	0.97	0.433
Error Residual	6	0.000022528	0.000003755		
Total	8	0.000029784			

Para medio ácido

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Distribución estadística (F)	Nivel de probabilidad (P)
Regresión	2	3.25333E-06	1.62667E-06	6.53	0.031
Error Residual	6	1.49358E-06	2.48931E-07		
Total	8	4.74692E-06			

Como resultado de este análisis se tiene que el valor de nivel de probabilidad es bajo (menor a 1), lo que indica que se tiene un nivel de aceptabilidad en cuanto al modelo de regresión multivariado, empleado para el análisis de superficies de respuesta.

El análisis del diseño realiza la determinación de los parámetros involucrados en la regresión multivariada, así como la determinación de los valores de significancia:

Predicción	Coefficiente	SE Coef (...)	T (...)	P (...)	VIF (...)
Constante	0.001287	0.002631	0.49	0.642	0.001287
Concentración	0.0001854	0.0001754	1.06	0.331	0.0001854
Humedad	0.00007146	0.00007911	0.90	0.401	0.00007146

S(...) = 0.001938

R-Sq (...) = 24.4%

PRESS (suma de cuadrados del error de predicción) = 0.000048

Con los valores obtenidos arriba, se aplica el modelo obtenido para el análisis de regresión, quedando la ecuación para las muestras tratadas con Ca(OH)_2 de la siguiente manera:

ácidos grasos libres /g de salvado = $0.00129 + 0.000185$ Concentración de $\text{Ca}(\text{OH})_2$
 $+ 0.000071$ Humedad

Para las muestras tratadas en medio ácido, se tienen los siguientes datos:

Predicción	Coefficientes	SE Coef (...)	T (...)	P (...)	VIF (...)
Constante	0.0032593	0.0006776	4.81	0.003	
Concentración	-0.00013228	0.00004517	-2.93	0.026	1.0
Humedad	-0.00004318	0.00002037	-2.12	0.078	1.0

S (...) = 0.0004989 R-Sq (...) = 68.5%

PRESS (suma de cuadrados del error de predicción) = 0.000004

Con lo que la función queda de la siguiente manera:

ácidos grasos libres /g de salvado = $0.00326 - 0.000132$ Concentración de $\text{HCl} - 0.000043$
 Humedad

Estas ecuaciones muestran los valores de respuesta para ácidos grasos en función de la concentración y la humedad, obteniendo matrices que contienen los valores predichos obtenidos a través de las funciones ilustradas anteriormente y, utilizando los datos de las variables independientes, se calculó la concentración de ácidos grasos ajustados:

Para muestras extrudidas en medio básico

Dato	Concentración	Ácidos grasos	Ajustado	Error estándar ajustado	Residual	Residual "studentizado"
1	1.0	0.002	0.002	0.001	0.001	1.12
2	5.0	0.006	0.006	0.001	0.000	0.12
3	10.0	0.004	0.005	0.001	0.001	-0.87
4	1.0	0.003	0.002	0.001	0.000	0.10
5	5.0	0.008	0.007	0.001	0.001	1.43
6	10.0	0.005	0.004	0.001	0.001	1.22
7	1.0	0.003	0.004	0.001	-0.001	-1.26
8	5.0	0.004	0.006	0.001	-0.001	-1.55
9	10.0	0.004	0.004	0.001	-0.000	-0.22

No existe evidencia de falta de ajuste ($P > 0.1$)

Para muestras extrudidas en medio ácido

Dato	Concentración	Ácidos grasos	Ajustado	Error estándar ajustado	Residual	Residual "studentizado"
1	1.0	0.002206	0.002264	0.000328	-0.000057	-0.15
2	5.0	0.001492	0.001303	0.000167	0.000189	0.40
3	10.0	0.000643	0.000209	0.000337	0.000434	1.18
4	1.0	0.001402	0.001832	0.000257	-0.000429	-1.00
5	5.0	0.000643	0.000871	0.000263	-0.000228	-0.54
6	10.0	0.000554	0.001073	0.000337	-0.000519	-1.41
7	1.0	0.001447	0.001400	0.000328	0.000047	0.13
8	5.0	0.002564	0.001734	0.000263	0.000829	1.96
9	10.0	0.000375	0.000641	0.000269	-0.000266	-0.63

No existe evidencia de falta de ajuste ($P > 0.1$)

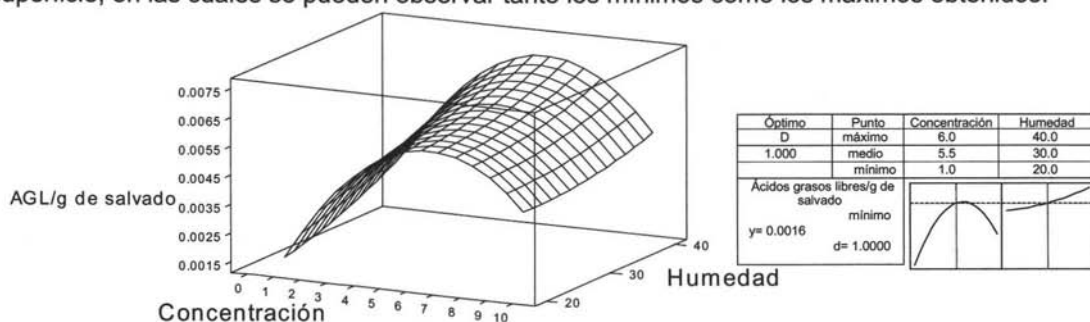
Las tablas anteriores se utilizan para determinar mediante la función de regresión múltiple el valor esperado de los ácidos grasos (Ajustado), el error estándar representa el coeficiente de regresión de cada dato del modelo, en función de la concentración y de la humedad, el residual es la diferencia de los ácidos grasos obtenidos vía experimentación menos los ácidos grasos ajustados, los residuales "studentizados" tienen varianza constante independientemente de la localización de las concentraciones de HCl o de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ cuando la forma del modelo es correcta, con esto obtenemos la función de falta de ajuste la cual nos indica si nuestra superficie de respuesta se encuentra dentro de un intervalo de confianza del 95%, o si es incorrecto el modelo de regresión múltiple.

El modelo de regresión proporciona un buen perfil de la varianza de predicción en toda la región experimental y asegura la simplicidad del cálculo así como los parámetros del modelo, proporcionando una distribución razonable de los datos en la región de interés.

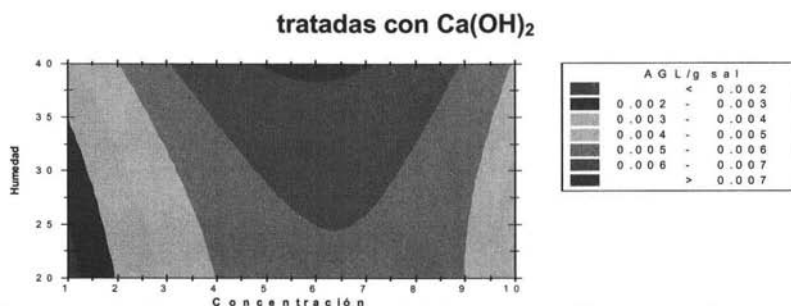
IV.5.3. Gráficas de contorno y de superficie de respuesta

Dentro del diseño de superficie de respuesta, se obtienen dos tipos de gráficas: el mapa de contorno y de superficie (representada en tres dimensiones), que muestran el comportamiento de la respuesta en concentración de ácidos grasos libres (y) para diferentes combinaciones de las variables independientes: concentración de iones de hidrogeno o cal (X_1) y humedad (X_2). (Gráficas 4.5a a d).

Las gráficas de contorno y de superficie de respuesta en estos casos son generados por modelos de segundo orden, obteniéndose dos gráficas de contorno y dos gráficas de superficie, en las cuales se pueden observar tanto los mínimos como los máximos obtenidos.

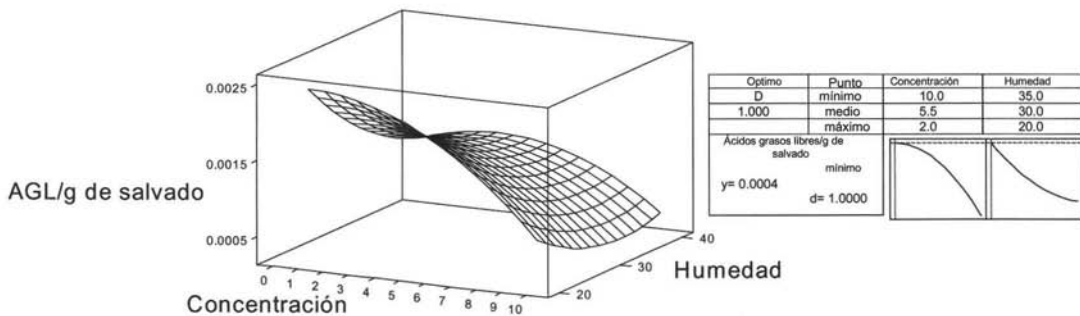


Gráfica 4.5a. Superficie de respuesta de ácidos grasos libres para las muestras

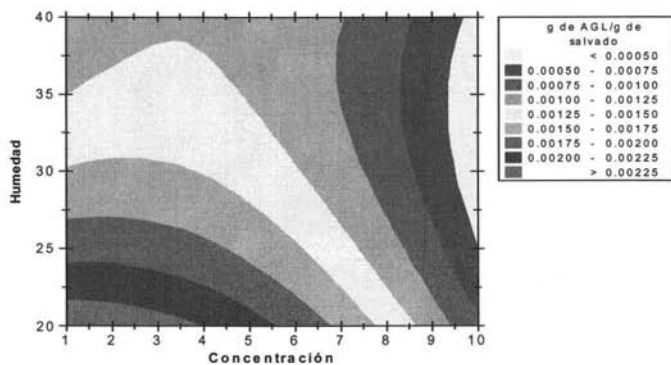


Gráfica 4.5b. Gráfica de contorno de ácidos grasos libres para las muestras

tratadas con $\text{Ca}(\text{OH})_2$



Gráfica 4.5c. Superficie de respuesta de ácidos grasos libres para las muestras tratadas con HCl



Gráfica 4.5d. Gráfica de contorno de ácidos grasos libres para las muestras tratadas con HCl

En la Gráfica 4.5a se observa que el valor máximo se encuentra a una concentración de 6% de Ca(OH)_2 y 40% de humedad con lo que se obtendrían 0.0072 g de AGL / g de salvado (que no es el óptimo) y el valor mínimo a 1% de Ca(OH)_2 con 20% de humedad, con los que se obtendrían 0.0016 g de AGL / g de salvado.

La Gráfica 4.5c muestra que, para obtener 0.002268 g de AGL / g de salvado, se tendrían que tratar las muestras con una concentración de 1% de HCl y 20% de humedad teniéndose con esto el punto medio. Para obtener el punto mínimo se tienen que tratar las muestras con una concentración de 10% de HCl y 35% de humedad.

IV.5.3.1. Proceso de optimización

Para el proceso de optimización calculado con el programa MINITAB se obtienen los siguientes resultados:

Respuesta a la optimización para las muestras tratadas con $\text{Ca}(\text{OH})_2$.

Parámetro	Punto	Punto mínimo	Paso de ascensión	Tamaño de paso
g de AGL / g de salvado	mínimo	1	10	1

Solución global

Concentración = 1 Humedad = 20.0

Respuesta a la predicción

g de AGL / g de salvado = 0.00162, punto óptimo = 1, Punto compuesto óptimo = 1

Respuesta a la optimización para las muestras tratadas con HCl

Parámetro	Punto	Punto mínimo	Paso de ascensión	Tamaño de paso
g de AGL / g de salvado	mínimo	1	10	1

Solución global

Concentración = 10.0 Humedad = 35.0

Respuesta a la predicción

g de AGL / g de salvado = 0.00032, punto óptimo= 1, Punto compuesto óptimo = 1.0

La respuesta a la optimización indica que en la gráfica de superficies de respuesta (Gráfica 4.5b), existe un mínimo encontrándose el punto en 0.00162 g de AGL / g de salvado con una solución global de 1% de Ca(OH)_2 base seca y una humedad de 20%. Por otro lado para las muestras tratadas con HCl el punto mínimo se encuentra a una concentración de 10% de HCl y 35% de humedad base seca, para obtener 0.00032 g de AGL / g de salvado (Gráfica 4.5d), que es significativamente menor que con el Ca(OH)_2 , por lo que el proceso de medio ácido es el que menos AGL forma.

CAPÍTULO V CONCLUSIONES

• De acuerdo con los datos del INEGI, para el año 2002 se produjeron **226,639** toneladas de arroz y, tomando en cuenta que el arroz palay tiene 8% de salvado, se obtendrían **18,131.12** toneladas de salvado de arroz. Si se considera que el salvado analizado en esta investigación tiene 9.15% de aceite, se obtendrían **1,659** toneladas de este producto que representan (considerando el precio promedio del aceite vegetal comestible en el mercado) aproximadamente **10,700** millones de pesos. Naturalmente, deben considerarse los gastos de operación así como los de inversión de capital para evaluar la rentabilidad del proceso y el tiempo de recuperación del capital invertido.

• La humedad es un parámetro importante en la operación técnica de extrusión. Para esta investigación, puede concluirse que, a menor humedad, el tiempo de residencia de las muestras en el extrusor es mayor ya que el agua está actuando como un "lubricante" que reduce el tiempo de residencia real en el interior del extrusor.

• Estadísticamente, puede utilizarse cualquier humedad y cualquier concentración de ácido para obtener una formación de AGL baja (a niveles de significancia de 1 y 5%), pero con la recomendación de que las concentraciones son diferentes una de otra. Para el caso del Ca(OH)_2 , el análisis de varianza indica que no existe diferencia significativa entre las concentraciones de Ca(OH)_2 y las humedades que aporten un sentido significativo a los

ensayos. Con la diferencia mínima significativa se observa que entre las concentraciones, así como con las humedades no existe diferencia, esto significa que, para las muestras extrudidas con $\text{Ca}(\text{OH})_2$, todas aumentan su contenido de AGL por lo tanto se observa que no hay estabilización a lo largo del tiempo de almacenamiento.

- Las muestras que tienen una estabilización mejor son las tratadas con medio ácido, las cuales pueden ser procesadas hasta 98 días después de ser estabilizadas mediante el proceso de extrusión sin que se hayan formado ácidos grasos libres en concentraciones apreciables. Las condiciones óptimas son una concentración de HCl de 10% y 35% de humedad en el salvado en base seca.

- El uso de concentraciones bajas de calcio incrementa la actividad enzimática de la lipasa, también se encuentra que, al incrementarse la concentración de calcio proveniente del hidróxido de calcio, $\text{Ca}(\text{OH})_2$, las muestras presentan un deterioro menor. Se observa con esto que, a bajas concentraciones de calcio la actividad de la lipasa aumenta y se reduce a altas concentraciones. La extrusión en medio básico sin las condiciones óptimas puede afectar de manera importante la calidad del aceite, por lo que este método no es el más adecuado, ya que es difícil que en un beneficio puedan controlar estos parámetros.

- La extrusión es un método eficiente para la inactivación de las enzimas que causan el deterioro del aceite de salvado de arroz, ya que la temperatura que alcanza en el proceso es la necesaria para estabilizar el salvado, especialmente con contenidos de humedad bajos.

No obstante se tendrían que analizar las características que la extrusión confiere al aceite, ya que en la literatura se informa que, para el caso de la extrusión de maíz integral, el aceite del germen del maíz se combina con los almidones formando complejos que son muy estables (y no se enrancian) pero no se sabe si podrían extraerse fácilmente después (Sánchez-Tovar y col., 1993).

- El proceso de extrusión es muy rápido, tiene relativamente poco trabajo técnico una vez arrancado y estabilizado y puede procesar altos volúmenes de materia prima.

- Por tanto, se recomienda continuar esta investigación recuperando ya el aceite del producto extrudido para caracterizar el aceite obtenido (índice de saponificación, acidez titulable, porcentaje de ácidos grasos libres y gramos de ácidos grasos). Asimismo, resulta muy importante realizar, en esta fase, un estudio de prefactibilidad del proceso, para que si los resultados indican una tasa interna de retorno adecuada, se presente a los productores de arroz para su implementación.

BIBLIOGRAFÍA

Aizono, Y., Funatsu, M., Fujiki, Y. 1976. Purification and characterization of rice bran lipase II. *Agr. Biol. Chem.*, 40(2):317-324.

Barber, S., Benedito de Barber, C. 1977. Basic and applied research needs for optimizing utilization of rice bran as food and feed. En *Process of rice by-products utilization*. Pub. Instituto de Agricultura y Tecnología de Alimentos. Valencia, España.

Carangian, D. D., Sutaria, P. B. 1970. Analysis of seven varieties of rice bran and hull. Part III. Determination of some vitamins and effects of storage. *Nutr. Appl. Sci. Bull.*, 22:86-93.

Cordero, V., Benedito de Barber, C., Primo, E. 1985. Inactivación enzimática del salvado de arroz. Relación de los parámetros del proceso y la actividad de peroxidasa. *Rev. Agroquím. Technol. Aliment.*, 25(1):75-86.

Cordero, V., Benedito de Barber, C., Primo, E. 1986. Inactivación enzimática del salvado de arroz. Relación de los parámetros del proceso y la actividad de lipasa. *Rev. Agroquím. Technol. Aliment.*, 26(2):276-282.

Delgado, L., Aspiroz, S., Sevilla, P.E. 1984. Contenido de aceites y ácidos grasos en el salvado de arroz de 14 variedades comerciales en México. *Agric. Tec. Méx.*, 10(1):59-69.

Efferson, 1985. Tomado de una fuente primaria de información. Programa Universitario de Alimentos, UNAM. Disco electrónico con información no clasificada. México D.F. México.

Fabila, G. R. 1991. Métodos numéricos en diseño de experimentos industriales. Apuntes de la Cátedra de Diseño de Experimentos impartida por el Ing. Gilberto Fabila, Profesor "A" del Posgrado en Ciencias de Alimentos (Ingeniería) Departamento de Alimentos y Biotecnología,

Facultad de Química, UNAM, D. F. México.

Guerra-Vargas, R. 1978. Extrusión, una nueva tecnología aplicada al procesamiento de maíz normal y opaco 2. Tesis de licenciatura. Facultad de Química, UNAM. D.F. México.

Iturbe, F.A., Valdivia, M. A. 1994. Manual de laboratorio de análisis fisicoquímicos de alimentos. Departamento de Alimentos y Biotecnología. Facultad de Química, UNAM. México D.F. México.

Leonzio, W. J. 1966. Rice Prosecution and Quality. M. Dekker, Nueva York, EEUUA.

Lowry, R. R., Tinsley, I. J. 1976. 1976. Rapid colorimetric determination of free fatty acids. JAOCS 53: 470.

Hoseney, R. C. 1991. Principios de ciencia y tecnología de los cereales. Editorial Acribia, S.A. Barcelona, España.

McCall, R. E., 1953. Composition of rice: Influence of variety and environment on physical and chemical composition. J. Agric. Food Chem., 1(16):988-993.

Montgomery D.C. 2002. Diseño y análisis de experimentos, Limusa Wiley, 2da edición, México, DF, México.

Oka, Y., Kiriya, S., Yoshida, A. 1972. Sterol composition of Japanese foodstuffs. En Sterol composition of edible vegetable oils and investigation of sterol analysis. Soc. Food Nutr. J., 25(2):63-67.

Osuna, C. F. J., Hernández, L., Salcedo, J., Tavitas, L., Gutiérrez, L. J. 2000. Manual para la producción de arroz en la región central de México. Sagar. INIFAP. CIRCE. Campo Experimental Zacatepec. Libro Técnico No. 1. Zacatepec, Morelos, México. 78 p.

Parihar, D. B. 1955. Saccharides of different varieties of Indian rice. *Nature*, 175:42-43.

Primo, E. 1982. Química agrícola. Vol. 3. Alhambra Mexicana, 2ª edición, D.F., México.

Primo, E. 1970. Chemical composition of rice. En By-products obtained in the differents steps of the milling diagram. *J. Agric. Chem. Food Technol.*, 10(2):244-257.

SAGARPA. 2002. Sistema de información agropecuaria de consulta, 1980-2001 (SIACON). Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. México D. F. México.

Sánchez-López, L. 1997. Estabilización del salvado de arroz mediante calentamiento dieléctrico y su comparación con otros métodos de estabilización. Tesis profesional. Universidad Veracruzana. Xalapa, Veracruz, México.

Sánchez-López, L., Solís-Fuentes, J.A., Durán-de-Bazúa, C. (1999). La estabilización del salvado de arroz mediante tratamiento combinado químico dieléctrico. **Industria Alimentaria**, 21(6):13,15-18,20.

Sánchez-Tovar, S.A., Salazar-Zazueta, A., Mena-Iniesta, B., Durán de Bazúa, C. (2000). Cinética de reacción para la gelatinización bajo tratamiento térmico alcalino de almidón de maíz en un extrusor considerado como un reactor continuo de flujo tipo pistón. **Tecnol. Ciencia Ed. (IMIQ)**, 15(2):90-101.

Sánchez-Tovar, S.A., Calderón-Villagómez, H.E., Durán de Bazúa, C. (1993). Extrusión alcalina de maíz blanco y amarillo, evaluaciones reológicas y sensoriales de masas y tortillas. **VOL. 1, SERIE: TECNOLOGÍAS LIMPIAS**. PUB. PROG. ING. QUIM. AMB. Y QUIM. AMB. 184 PAGES. FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM. ISBN 968-36-3322-6. MÉXICO D.F.

Saunders, R. M., Shiu-Chan-Chang, Luh, S. S. 1980. Rice Oil: Chemistry and Technology. En Rice: Production and utilization. Avi Pub. Company Inc. Pp. 764-787. Westport, Conn., EEUUA.

Shastri, B. S. 1973. Enzymes in rice bran. Disertación. Universidad de Mysore, Mysore, India.

Solís-Fuentes, J.A., Durán-de-Bazúa, C. 1990. Estudio del efecto de la extrusión sobre la estabilidad y calidad nutricia de esquilmos agropecuarios y subproductos agroindustriales. Caso tipo: Extrusión de salvado de arroz. **MEMORIAS DE LA XXX CONVENCION NACIONAL DEL IMIQ.** Eds. A. Anaya, O. Canales, H. Gómez, J. Bellido y L. Miramontes. Tomo I. Pp. 86-94. Guadalajara, Jal. México.

Stauffer, C. E. 1989. Enzyme assays for food scientists. Van Nostrand Reinhold Pub. Co., Nueva York, EEUUA.

Sugimura, K., Ebisawa, H. 1956. Amino acids composition of rice protein. II. A preliminary experiment on the non-protein amino acids. Inst. Food Res. Bull., 10:183-184.

NORMAS MEXICANAS

Proteínas. NMX-F-068-1980. ALIMENTOS. Determinación de proteínas.

Grasas. NMX-F-089-S-1978. DETERMINACIÓN DE EXTRACTO ETÉREO (MÉTODO SOXHLET) EN ALIMENTOS.

Cenizas. NMX-F-066-S-1978. DETERMINACIÓN DE CENIZAS EN ALIMENTOS.

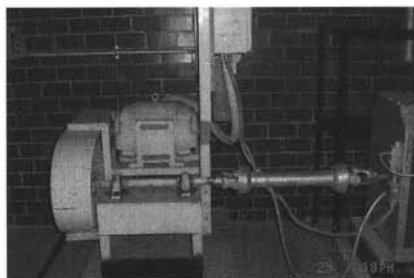
Humedad. NMX-F-83-1986. ALIMENTOS. DETERMINACIÓN DE HUMEDAD EN PRODUCTOS ALIMENTICIOS.

ANEXO I
ACERVO FOTOGRÁFICO

Equipo empleado



Parte frontal del extrusor



Motor y flecha del extrusor



Boquilla del extrusor

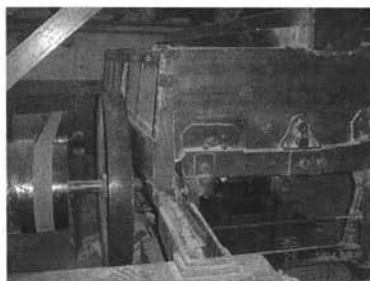


Balanza analítica



Espectrofotómetro

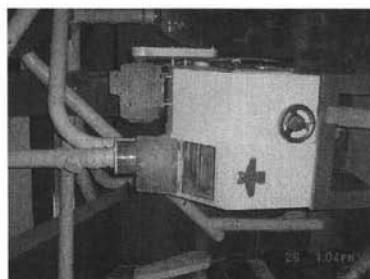
Equipo utilizado para el procesado del arroz, beneficio San José



Seleccionadora de arroz



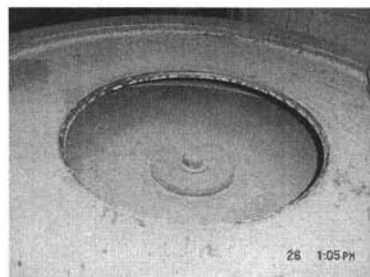
Vista frontal de la seleccionadora de arroz



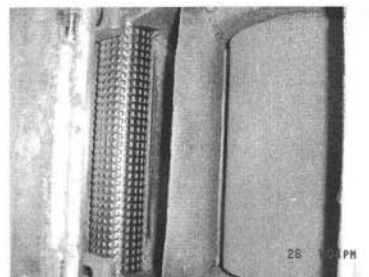
Parte posterior de la pulidora de arroz



Entrada a la descascarilladora de arroz



Parte superior de la pulidora de arroz



Rodillos de la descascarilladora

Características generales del arroz y fracciones estudiadas

Tipos de arroz

GLUTINOSO

GRANO
LARGO

GRANO
MEDIO

VAPORIZADO

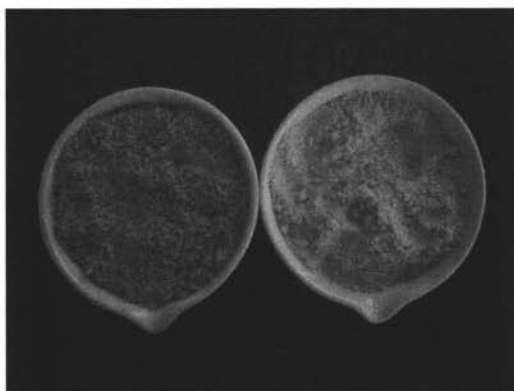
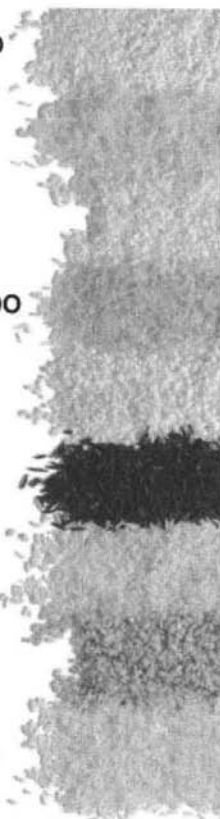
GRANO
REDONDO

SALVAJE

BASMATI

INTEGRAL

TAILANDÉS



Fracciones del procesado de arroz (cascarilla y salvado)



Arroz palay

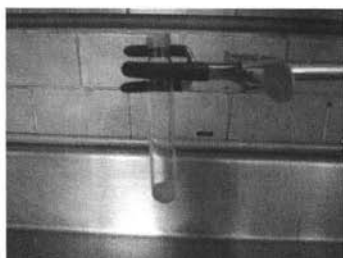


Campo sembrado de arroz

Rama de arroz



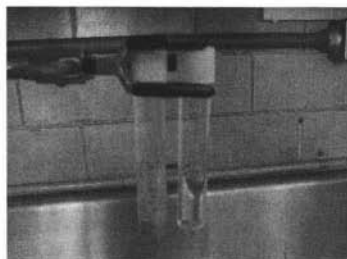
Preparación de las muestras extrudidas



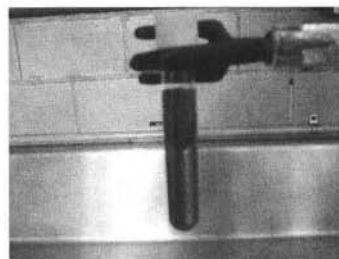
Se pesan 0.5 g de salvado



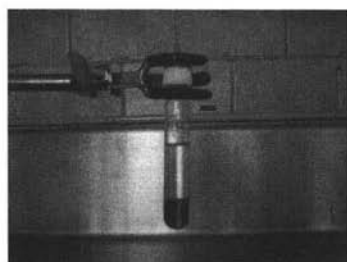
Se agregan 0.3 mL de solución buffer



Se agregan 10 mL de solvente
se toman 5 mL para el análisis



Reactivo de cobre



5 mL de extracto con 2 mL de reactivo
de cobre



Celda con muestra blanco y
muestra colorida

ANEXO II

DATOS EXPERIMENTALES

Determinación del máximo de absorción del complejo

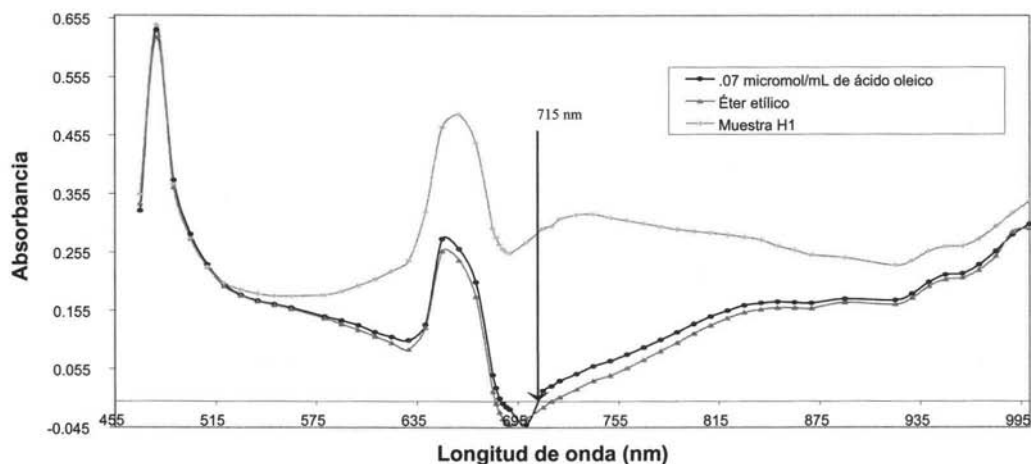
Para corroborar la longitud de onda a la cual deberían ser leídas las muestras, se realizó un barrido espectrofotométrico para determinar el máximo de absorción del complejo formado entre los AGL y el acetato cúprico.

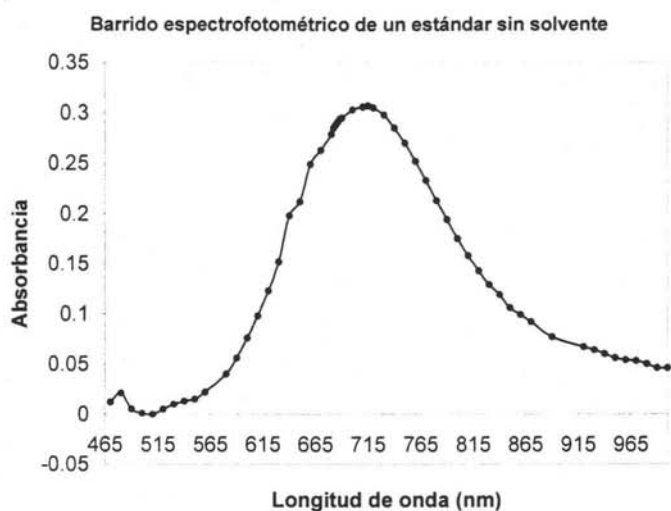
El barrido espectrofotométrico se realizó en las siguientes muestras:

1. Éter etílico puro
2. Muestra H1 (humedad de 20% sin adición de HCl ni $\text{Ca}(\text{OH})_2$)
3. 0.7 micromol/mL de ácido oleico

La longitud de onda máxima se obtiene a los 660 nanómetros; sin embargo, a esta longitud de onda también absorbe el éter por lo que para evitar la interferencia del disolvente se utilizó el punto donde la longitud de onda del éter es igual a cero quedando en 715 nanómetros, la cual coincide perfectamente con el máximo de diferencia de las curvas obtenidas, como se muestra en las gráficas siguientes:

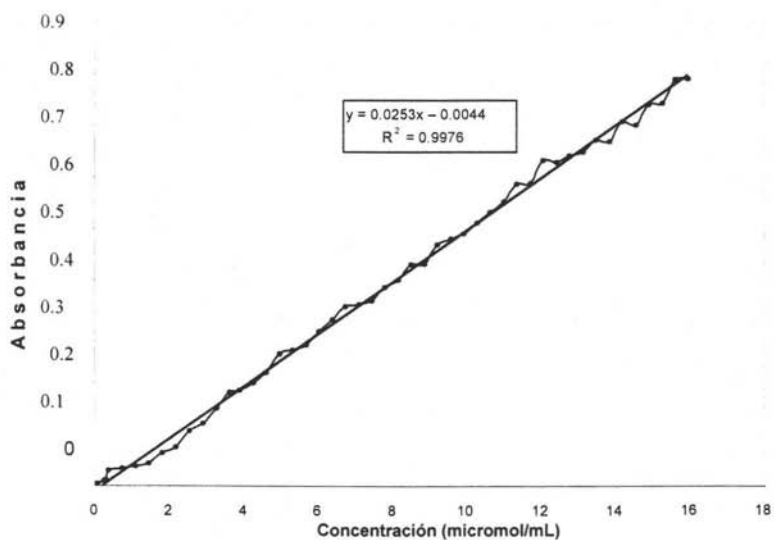
Barrido espectrofotométrico de la muestra H1, un estándar y el solvente





Curva estándar

Para determinar la concentración de ácidos grasos libres presentes en cada una de las muestras analizadas con la metodología planteada, se construye una curva estándar de ácido oleico.



La curva proporcionó la siguiente ecuación: $y = 0.0253x (-0.0044)$, con un coeficiente $R^2 = 0.9976$.

Valor del pH de las muestras

Se determinó el promedio de los valores de pH de las muestras a las diferentes concentraciones de HCl y Ca(OH)_2 , las mediciones se realizaron, hidratando las muestras con agua destilada a pH 7, calibrando el potenciómetro con los estándares y obteniendo los siguientes resultados

Concentración	Valor de pH
Sin adición	6.76
HCl H1	6.46
HCl H2	4.45
HCl H3	2.22
Ca(OH)_2 H1	6.99
Ca(OH)_2 H2	8.70
Ca(OH)_2 H3	9.44

Datos finales de la concentración de AGL en las muestras a partir de las lecturas espectrofotométricas

Para HCl

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

Muestras	Tiempo (días)	Abs resultante en el espectro	micromol/mL resultantes en la curva	micromol/mL reales por la dilución 10/50	micromol/g de salvado	microgramos/g de salvado	miligramos/g de salvado	g de AGL/g de salvado
C1H1	0	0.045	1.9526	0.3905	7.8103	2206.4032	2.2064	0.0022
	7	0.050	2.1502	0.4300	8.6008	2429.7233	2.4297	0.0024
	14	0.056	2.3874	0.4775	9.5494	2697.7075	2.6977	0.0027
	21	0.081	3.3755	0.6751	13.5020	3814.3083	3.8143	0.0038
C1H2	98	0.195	7.8814	1.5763	31.5257	8906.0079	8.9060	0.0089
	0	0.027	1.2411	0.2482	4.9644	1402.4506	1.4025	0.0014
	7	0.063	2.6640	0.5328	10.6561	3010.3557	3.0104	0.0030
	14	0.089	3.6917	0.7383	14.7668	4171.6206	4.1716	0.0042
C1H3	21	0.091	3.7708	0.7542	15.0830	4260.9486	4.2609	0.0043
	98	0.180	7.2885	1.4577	29.1542	8236.0474	8.2360	0.0082
	0	0.028	1.2806	0.2561	5.1225	1447.1146	1.4471	0.0014
	7	0.034	1.5178	0.3036	6.0711	1715.0988	1.7151	0.0017
	14	0.059	2.5059	0.5012	10.0237	2831.6996	2.8317	0.0028
	21	0.061	2.5850	0.5170	10.3399	2921.0277	2.9210	0.0029
	98	0.102	4.2055	0.8411	16.8221	4752.2530	4.7523	0.0048
	0	0.035	1.5573	0.3115	6.2292	1759.7628	1.7598	0.0018

C2H1	7	0.043	1.8735	0.3747	7.4941	2117.0751	2.1171	0.0021
	14	0.046	1.9921	0.3984	7.9684	2251.0672	2.2511	0.0023
	21	0.047	2.0316	0.4063	8.1265	2295.7312	2.2957	0.0023
	98	0.049	2.1107	0.4221	8.4427	2385.0593	2.3851	0.0024
C2H2	0	0.020	0.9644	0.1929	3.8577	1089.8024	1.0898	0.0011
	7	0.022	1.0435	0.2087	4.1739	1179.1304	1.1791	0.0012
	14	0.026	1.2016	0.2403	4.8063	1357.7866	1.3578	0.0014
	21	0.029	1.3202	0.2640	5.2806	1491.7787	1.4918	0.0015
C2H3	0	0.039	1.7154	0.3431	6.8617	1938.4190	1.9384	0.0019
	7	0.010	0.5692	0.1138	2.2767	643.1621	0.6432	0.0006
	14	0.017	0.8458	0.1692	3.3834	955.8103	0.9558	0.0010
	21	0.019	0.9249	0.1850	3.6996	1045.1383	1.0451	0.0010
C3H1	0	0.034	1.5178	0.3036	6.0711	1715.0988	1.7151	0.0017
	7	0.059	2.5059	0.5012	10.0237	2831.6996	2.8317	0.0028
	14	0.008	0.4901	0.0980	1.9605	553.8340	0.5538	0.0006
	21	0.012	0.6482	0.1296	2.5929	732.4901	0.7325	0.0007
C3H2	0	0.015	0.7668	0.1534	3.0672	866.4822	0.8665	0.0009
	7	0.016	0.8063	0.1613	3.2253	911.1462	0.9111	0.0009
	14	0.020	0.9644	0.1929	3.8577	1089.8024	1.0898	0.0011
	21	0.020	0.9644	0.1929	3.8577	1089.8024	1.0898	0.0011
C3H3	0	0.004	0.3320	0.0664	1.3281	375.1779	0.3752	0.0004
	7	0.008	0.4901	0.0980	1.9605	553.8340	0.5538	0.0006
	14	0.015	0.7668	0.1534	3.0672	866.4822	0.8665	0.0009
	21	0.019	0.9249	0.1850	3.6996	1045.1383	1.0451	0.0010
C3H3	0	0.028	1.2806	0.2561	5.1225	1447.1146	1.4471	0.0014
	7	0.010	0.5692	0.1138	2.2767	643.1621	0.6432	0.0006
	14	0.014	0.7273	0.1455	2.9091	821.8182	0.8218	0.0008
	21	0.015	0.7668	0.1534	3.0672	866.4822	0.8665	0.0009
	98	0.016	0.8063	0.1613	3.2253	911.1462	0.9111	0.0009
C3H3	0	0.017	0.8458	0.1692	3.3834	955.8103	0.9558	0.0010

Para $\text{Ca}(\text{OH})_2$

Muestras	Tiempo (días)	Abs resultante en el espectro	micromol/mL resultantes en la curva	micromol/mL por la dilución 10/50	micromol/g de salvado	microgramos/g de salvado	miligramos/g de salvado	g de AGL/g de salvado
C1H1	0	0.049	2.1107	0.4221	8.4427	2385.0593	2.3851	0.0024
	7	0.080	3.3360	0.6672	13.3439	3769.6443	3.7696	0.0038
	14	0.119	4.8775	0.9755	19.5099	5511.5415	5.5115	0.0055
	21	0.130	5.3123	1.0625	21.2490	6002.8458	6.0028	0.0060
	98	0.261	10.4901	2.0980	41.9605	11853.8340	11.8538	0.0119
C1H2	0	0.052	2.2292	0.4458	8.9170	2519.0514	2.5191	0.0025
	7	0.082	3.4150	0.6830	13.6601	3858.9723	3.8590	0.0039
	14	0.122	4.9960	0.9992	19.9842	5645.5336	5.6455	0.0056
	21	0.130	5.3123	1.0625	21.2490	6002.8458	6.0028	0.0060
	98	0.242	9.7391	1.9478	38.9565	11005.2174	11.0052	0.0110

C1H3	0	0.059	2.5059	0.5012	10.0237	2831.6996	2.8317	0.0028
	7	0.076	3.1779	0.6356	12.7115	3590.9881	3.5910	0.0036
	14	0.123	5.0356	1.0071	20.1423	5690.1976	5.6902	0.0057
	21	0.126	5.1542	1.0308	20.6166	5824.1897	5.8242	0.0058
	98	0.275	11.0435	2.2087	44.1739	12479.1304	12.4791	0.0125
C2H1	0	0.087	3.6126	0.7225	14.4506	4082.2925	4.0823	0.0041
	7	0.093	3.8498	0.7700	15.3992	4350.2767	4.3503	0.0044
	14	0.117	4.7984	0.9597	19.1937	5422.2134	5.4222	0.0054
	21	0.177	7.1700	1.4340	28.6798	8102.0553	8.1021	0.0081
	98	0.292	11.7154	2.3431	46.8617	13238.4190	13.2384	0.0132
C2H2	0	0.129	5.2727	1.0545	21.0909	5958.1818	5.9582	0.0060
	7	0.134	5.4704	1.0941	21.8814	6181.5020	6.1815	0.0062
	14	0.153	6.2213	1.2443	24.8854	7030.1186	7.0301	0.0070
	21	0.193	7.8024	1.5605	31.2095	8816.6798	8.8167	0.0088
	98	0.244	9.8182	1.9636	39.2727	11094.5455	11.0945	0.0111
C2H3	0	0.184	7.4466	1.4893	29.7866	8414.7036	8.4147	0.0084
	7	0.208	8.3953	1.6791	33.5810	9486.6403	9.4866	0.0095
	14	0.225	9.0672	1.8134	36.2688	10245.9289	10.2459	0.0102
	21	0.232	9.3439	1.8688	37.3755	10558.5771	10.5586	0.0106
	98	0.257	10.3320	2.0664	41.3281	11675.1779	11.6752	0.0117
C3H1	0	0.095	3.9289	0.7858	15.7154	4439.6047	4.4396	0.0044
	7	0.105	4.3241	0.8648	17.2964	4886.2451	4.8862	0.0049
	14	0.186	7.5257	1.5051	30.1028	8504.0316	8.5040	0.0085
	21	0.202	8.1581	1.6316	32.6324	9218.6561	9.2187	0.0092
	98	0.215	8.6719	1.7344	34.6877	9799.2885	9.7993	0.0098
C3H2	0	0.087	3.6126	0.7225	14.4506	4082.2925	4.0823	0.0041
	7	0.103	4.2451	0.8490	16.9802	4796.9170	4.7969	0.0048
	14	0.150	6.1028	1.2206	24.4111	6896.1265	6.8961	0.0069
	21	0.187	7.5652	1.5130	30.2609	8548.6957	8.5487	0.0085
	98	0.230	9.2648	1.8530	37.0593	10469.2490	10.4692	0.0105
C3H3	0	0.094	3.8893	0.7779	15.5573	4394.9407	4.3949	0.0044
	7	0.156	6.3399	1.2680	25.3597	7164.1107	7.1641	0.0072
	14	0.207	8.3557	1.6711	33.4229	9441.9763	9.4420	0.0094
	21	0.270	10.8458	2.1692	43.3834	12255.8103	12.2558	0.0123
	98	0.342	13.6917	2.7383	54.7668	15471.6206	15.4716	0.0155

Para las muestras testigos

Muestras	Tiempo (días)	Abs resultante en el espectro	micromol/mL resultantes en la curva	micromol/mL por la dilución 10/50	micromol/g de salvado	microgramos/g de salvado	miligramos/g de salvado	g de AGL/g de salvado
S/EXTRUDIR	0	0.026	1.2016	0.2403	4.8063	1357.7866	1.3578	0.0014
	7	0.376	15.0356	3.0071	60.1423	16990.1976	16.9902	0.0170
	14	0.613	24.4032	4.8806	97.6126	27575.5731	27.5756	0.0276
	21	0.762	30.2925	6.0585	121.1700	34230.5138	34.2305	0.0342
	98	1.08	42.8617	8.5723	171.4466	48433.6759	48.4337	0.0484
TESTIGOS	0	0.025	1.1621	0.2324	4.6482	1313.1225	1.3131	0.0013
EXTRUDIDOS	7	0.032	1.4387	0.2877	5.7549	1625.7708	1.6258	0.0016

	14	0.033	1.4783	0.2957	5.9130	1670.4348	1.6704	0.0017
	21	0.034	1.5178	0.3036	6.0711	1715.0988	1.7151	0.0017
	98	0.047	2.0316	0.4063	8.1265	2295.7312	2.2957	0.0023
H1	0	0.029	1.3202	0.2640	5.2806	1491.7787	1.4918	0.0015
	7	0.04	1.7549	0.3510	7.0198	1983.0830	1.9831	0.0020
	14	0.123	5.0356	1.0071	20.1423	5690.1976	5.6902	0.0057
	21	0.168	6.8142	1.3628	27.2569	7700.0791	7.7001	0.0077
	98	0.292	11.7154	2.3431	46.8617	13238.4190	13.2384	0.0132
H2	0	0.079	3.2964	0.6593	13.1858	3724.9802	3.7250	0.0037
	7	0.227	9.1462	1.8292	36.5850	10335.2569	10.3353	0.0103
	14	0.287	11.5178	2.3036	46.0711	13015.0988	13.0151	0.0130
	21	0.39	15.5889	3.1178	62.3557	17615.4941	17.6155	0.0176
	98	0.592	23.5731	4.7146	94.2925	26637.6285	26.6376	0.0266
H3	0	0.04	1.7549	0.3510	7.0198	1983.0830	1.9831	0.0020
	7	0.102	4.2055	0.8411	16.8221	4752.2530	4.7523	0.0048
	14	0.209	8.4348	1.6870	33.7391	9531.3043	9.5313	0.0095
	21	0.232	9.3439	1.8688	37.3755	10558.5771	10.5586	0.0106
	98	0.828	32.9012	6.5802	131.6047	37178.3399	37.1783	0.0372

ANEXO III

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Regresión multifactorial para Ca(OH)₂

La ecuación de la regresión es:

ácidos grasos libres /g de salvado = 0.00129 +0.000185 Concentración +0.000071

Humedad

Predicción	Coficiente	SE Coef	T	P	VIF
Constante	0.001287	0.002631	0.49	0.642	0.001287
Concentración	0.0001854	0.0001754	1.06	0.331	0.0001854
Humedad	0.00007146	0.00007911	0.90	0.401	0.00007146

S = 0.001938

R-Sq = 24.4%

PRESS (suma de cuadrados del error de predicción)= 0.000048

Análisis de Varianza

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	P
Regresión	2	0.000007256	0.000003628	0.97	0.433
Error Residual	6	0.000022528	0.000003755		
Total	8	0.000029784			

Dato	Concentración	ácidos grasos	ajustado	Error estándar ajustado	Residual	Residual studentizado
1	1.0	0.002	0.002	0.001	0.001	1.12
2	5.0	0.006	0.006	0.001	0.000	0.12
3	10.0	0.004	0.005	0.001	0.001	-0.87
4	1.0	0.003	0.002	0.001	0.000	0.10
5	5.0	0.008	0.007	0.001	0.001	1.43
6	10.0	0.005	0.004	0.001	0.001	1.22
7	1.0	0.003	0.004	0.001	-0.001	-1.26
8	5.0	0.004	0.006	0.001	-0.001	-1.55
9	10.0	0.004	0.004	0.001	-0.000	-0.22

No existe evidencia de falta de ajuste (P > 0.1)

Regresión multifactorial HCl.

La ecuación de la regresión es:

g de AGL/g de salvado = 0.00326 - 0.000132 Concentración - 0.000043 Humedad

Predicción	Coefficientes	SE Coef	T	P	VIF
Constante	0.0032593	0.0006776	4.81	0.003	
Concentración	-0.00013228	0.00004517	-2.93	0.026	1.0
Humedad	-0.00004318	0.00002037	-2.12	0.078	1.0

S = 0.0004989 R-Sq = 68.5%

PRESS (suma de cuadrados del error de predicción) = 0.000004

Análisis de Varianza

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	P
Regresión	2	3.25333E-06	1.62667E-06	6.53	0.031
Error Residual	6	1.49358E-06	2.48931E-07		
Total	8	4.74692E-06			

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados secuencial
Concentración	1	2.13487E-06
Humedad	1	1.11846E-06

Dato	Concentración	ácidos grasos	ajustado	Error estándar ajustado	Residual	Residual studentizado
1	1.0	0.002206	0.002264	0.000328	-0.000057	-0.15
2	5.0	0.001492	0.001303	0.000167	0.000189	0.40
3	10.0	0.000643	0.000209	0.000337	0.000434	1.18
4	1.0	0.001402	0.001832	0.000257	-0.000429	-1.00
5	5.0	0.000643	0.000871	0.000263	-0.000228	-0.54
6	10.0	0.000554	0.001073	0.000337	-0.000519	-1.41
7	1.0	0.001447	0.001400	0.000328	0.000047	0.13
8	5.0	0.002564	0.001734	0.000263	0.000829	1.96
9	10.0	0.000375	0.000641	0.000269	-0.000266	-0.63

No existe evidencia de falta de ajuste (P > 0.1)

**Análisis de varianza para determinar el efecto de la humedad y
concentración del Ca(OH)₂ en los ácidos grasos libres**

		C1	C2	C3	TOTAL	MEDIAS
		1 %	5 %	10 %		
H1	20	0.00238506	0.00408229	0.0048863	0.0113536	0.003784533
H2	30	0.00251905	0.0061815	0.0040823	0.0127828	0.004260947
H3	40	0.0028317	0.0084147	0.0043949	0.0156413	0.00521378
TOTAL		0.00773581	0.01867849	0.01336348		
MEDIAS		0.002578603	0.006226163	0.004454493		

suma de x	0.00773581	0.01867849	0.01336348
Suma de (x) ²	5.98428E-05	0.000348886	0.000178583
Suma total	0.03977778		
Factor de corrección	0.000175808		

	Para humedades	Para concentraciones	TOTAL	Error
SC	3.17761E-06	1.99625E-05	2.97839E-05	6.644E-06
g.l	2	2	8	4

CUADRADOS MEDIOS	
Humedades	1.5888E-06
Concentraciones	9.98124E-06
Error	1.66096E-06

Relación de variación de las humedades

Nivel de significancia	F calculada	comparativo	f tablas	diferencia significativa
1%	0.956558429	<	17.99980964	no
5%	0.956558429	<	6.944276265	no

Relación de variación de las concentraciones

Nivel de significancia	F calculada	comparativo	f tablas	diferencia significativa
1%	6.009324103	<	17.99980964	no
5%	6.009324103	<	6.944276265	no
T	4.604080459			

DMS	0.002797152
-----	-------------

C2	0.006226163		H3	0.00521378
C3	0.004454493		H2	0.004260947
C1	0.002578603		H1	0.003784533
diferencia de medias para concentraciones		comparativo	DMS 1%	diferencia significativa
C2-C3	0.00177167	<	0.002797152	no
C2-C1	0.00364756	>	0.002797152	si
diferencia de medias para humedades		comparativo	DMS 1%	diferencia significativa
H3-H2	0.000952833	<	0.002797152	no
H3-H1	0.001429247	<	0.002797152	no

Análisis de varianza para determinar el efecto de la humedad y concentración del HCl en los ácidos grasos libres

		C1	C2	C3	TOTAL	MEDIAS
		1 %	5 %	10 %		
H1	20	0.0022064	0.00256372	0.0005538	0.005324	0.00177465
H2	30	0.00140245	0.00149178	0.0003752	0.0032694	0.001089803
H3	40	0.00144711	0.00064316	0.0006432	0.0027334	0.000911143
	TOTAL	0.00505596	0.00469866	0.00157217		
	MEDIAS	0.00168532	0.00156622	0.000524057		

suma de x	0.00505596	0.00469866	0.00157217
suma de (x) ²	2.55627E-05	2.20774E-05	2.47172E-06
suma total	0.01132679		
Factor de corrección	1.42551E-05		

	Para humedades	Para concentraciones	TOTAL	Error
SC	1.24658E-06	2.44882E-06	4.74693E-06	1.052E-06
g.l	2	2	8	4

CUADRADOS MEDIOS	
Humedades	6.23289E-07
Concentraciones	1.22441E-06
Error	2.62882E-07

Relación de variación de las humedades

<i>Nivel de significancia</i>	<i>F calculada</i>	<i>comparativo</i>	<i>f tablas</i>	<i>diferencia significativa</i>
1%	2.370981147	<	17.99980964	no
5%	2.370981147	<	6.944276265	no

Relación de variación de las concentraciones

<i>Nivel de significancia</i>	<i>F calculada</i>	<i>comparativo</i>	<i>f tablas</i>	<i>diferencia significativa</i>
1%	4.657638487	<	17.99980964	no
5%	4.657638487	<	6.944276265	no

t	4.604080459
DMS al 1 %	0.001112801

C1	0.00168532		H1	0.00177465
C2	0.00156622		H2	0.001089803
C3	0.000524057		H3	0.000911143
Diferencia de medias para concentraciones		comparativo	DMS 1%	diferencia significativa
C1-C3	0.00168532	>	0.001112801	si
C1-C2	0.001161263	>	0.001112801	si
Diferencia de medias para humedades		comparativo	DMS 1%	diferencia significativa
H1-H3	0.000684847	<	0.001112801	no
H1-H2	0.000863507	<	0.001112801	no

Método de análisis de superficie

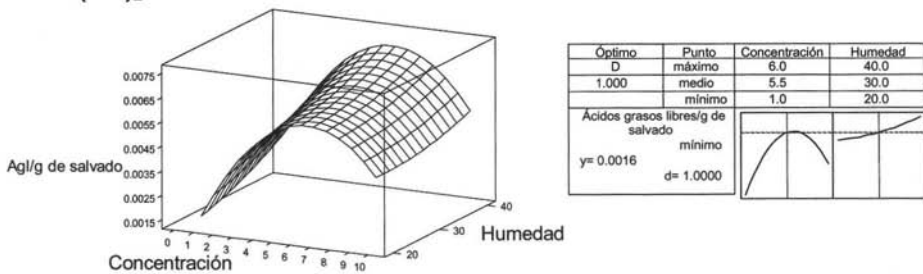
Con los datos obtenidos queremos determinar las condiciones de operación que maximizan el rendimiento de este proceso, dos variables controlables influyen en el rendimiento del proceso. La concentración de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ y la humedad. Como no sabemos dónde se encuentran los puntos que maximizan dicho proceso ajustamos un modelo de primer orden y aplicando el método del descenso más pronunciado (se busca el punto donde la concentración de ácidos grasos sea

menor). Para simplificar los cálculos las variables independientes se codifican en el intervalo usual (-1, 1). Por lo tanto si ξ_1 denota la variable natural, la concentración ξ_2 la variable natural humedad entonces las variables codificadas

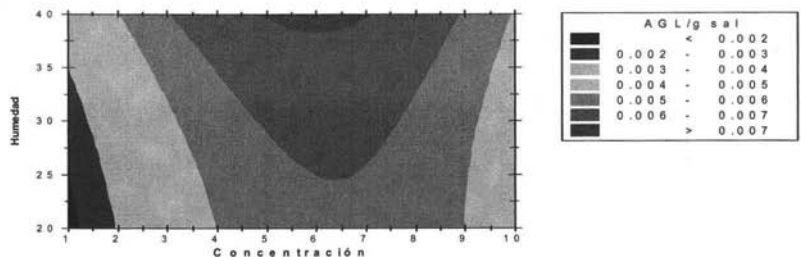
$$\text{son: } x_1 = \frac{\text{concentración}_{\text{alta}} - \frac{\text{concentración}_{\text{baja}} - \text{concentración}_{\text{alta}}}{2}}{\frac{\text{concentración}_{\text{baja}} - \text{concentración}_{\text{alta}}}{2}}$$

$$x_2 = \frac{\text{humedad}_{\text{alta}} - \frac{\text{humedad}_{\text{baja}} - \text{humedad}_{\text{alta}}}{2}}{\frac{\text{humedad}_{\text{baja}} - \text{humedad}_{\text{alta}}}{2}}$$

Para $\text{Ca}(\text{OH})_2$



Gráfica 4.5a. Superficie de respuesta de ácidos grasos libres para las muestras tratadas con $\text{Ca}(\text{OH})_2$



Gráfica 4.5b. Gráfica de contorno de ácidos grasos libres para las muestras tratadas con $\text{Ca}(\text{OH})_2$

Respuesta a la optimización para las muestras tratadas con Ca(OH)_2 .

Parámetro	Punto	Punto mínimo	Terminar	Paso de ascensión	Tamaño de paso
ácidos grasos	mínimo	1	1	10	1

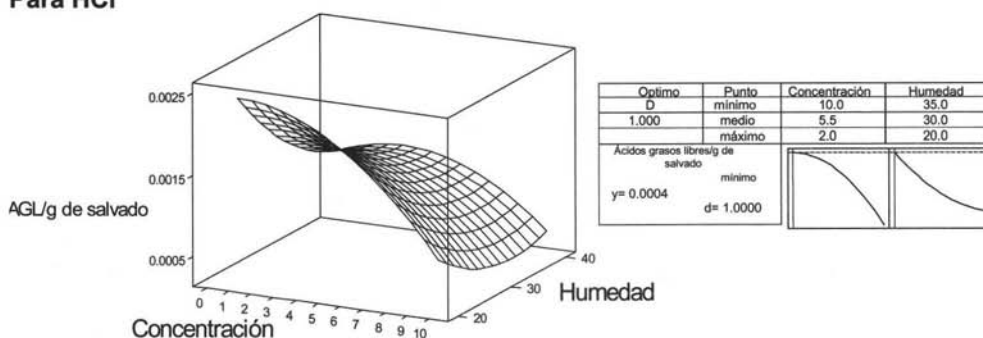
Solución global

Concentración = 1 Humedad = 20.0

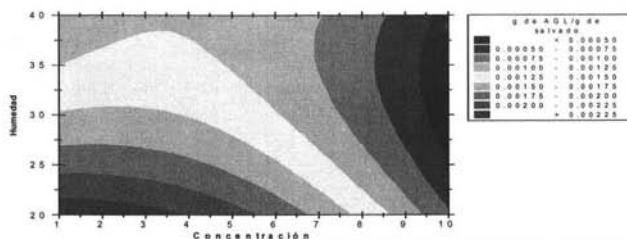
Respuesta a la predicción: ácidos grasos = 0.00162, punto óptimo= 1

Punto compuesto óptimo = 1.0

Para HCl



Gráfica 4.5c. Superficie de respuesta de ácidos grasos libres para las muestras tratadas con HCl



Gráfica 4.5d. Gráfica de contorno de ácidos grasos libres para las muestras tratadas con HCl

Respuesta a la optimización para las muestras tratadas con HCl

<i>Parámetro</i>	Punto	Punto mínimo	Terminar	Paso de ascensión	Tamaño de paso
ácidos grasos	mínimo	1	1	10	1

Solución global

Concentración = 10.0

Humedad = 35.0

Respuesta a la predicción: ácidos graso = 0.00032, punto óptimo= 1

Punto compuesto óptimo = 1.0

ANEXO IV

PUBLICACIÓN

**EUROPEAN JOURNAL OF LIPID SCIENCE
AND TECHNOLOGY**

EXTRUSION STABILIZATION OF RICE BRAN FATTY ACIDS BY pH MODIFICATION

Benjamín ESCAMILLA-CASTILLO¹, René VARELA-MONTELLANO¹, Salvador A. SÁNCHEZ-TOVAR¹, Julio Alberto SOLÍS-FUENTES², Carmen DURÁN-de-BAZÚA^{1(*)}

¹Cleaner Technologies Group, Program from Environmental Chemical Engineering and Chemistry

Facultad de Química, UNAM, Bldgs. "B" and "E", Ciudad Universitaria, 04510 México, D.F. México

Phone: (+52-55) 56 22 53 00 to 02 and 04. Fax (+52-55) 56 22 53 03. E-Mail: mcduran@servidor.unam.mx

²Instituto de Ciencias Básicas, Universidad Veracruzana

Abstract

Rice bran is considered in Mexico as a "waste", useful only for feeds. As considerable amounts of oil are available in rice bran, it might be worthwhile to stabilize it and extract the edible oil before using it for feedstuffs. Precisely these oils are responsible for its rapid deterioration, particularly in climatic conditions such as those prevalent in Mexico's tropical areas (high humidity and high temperature). This paper deals with the study of the effect of pH during extrusion of fresh rice bran in order to inactivate lipid breaking enzymes. Hydrochloric acid or calcium hydroxide, Ca(OH)₂ were added in 0, 1, 5, 10% (dry basis) and moisture content of bran samples were varied (20, 30, 40%, dry basis), in a 2³ factorial design to corroborate its effect at acid and alkaline pH range. Free fatty acids increase, FFA, was the control variable. Extruded samples were stored at room temperature (between 20 and 28°C) using a non extruded sample as control to assess the shelf life effects. Results indicate that in acid extruded samples, the increase in FFA concentrations was much less after 98 days than the unmodified pH or alkaline samples. The lowest FFA increase after three months of storage time was <10 mg FFA/g rice bran using extrusion with no water or chemicals added or using extrusion adding HCl, irrespective of the moisture contents of rice bran.

Key words: Rice bran, extrusion, free fatty acids, lipids breaking enzymes

Introduction

Among the objectives to produce enough food for people, is the holistic approach of using the by-products generated during its processing and food preparation. However, industrialization advances confront some problems, that go from raw materials production to the by-products generation that somehow create negative environmental impacts.

For example, for the case of rice industrialization, to obtain clean grain endosperm, abrasion operations combined with some preparation steps are carried out to separate the outer seed layers (hull), and then the bran. Bran represents about 10% of the whole grain

and its oil content is between 10 to 22% depending upon the rice variety and some other factors (Barber and Benedito-de-Barber, 1977).

Rice bran may be an important source of oil for direct human consumption, of proteins, and of some other nutrients. In Mexico, however, these valuable nutrients are not recovered due to the high rancidity rates that take place in the rice processing installations (high air humidity and temperature), that enhance the activity of lipases present in bran, rapidly transforming oil in free fatty acids (FFA). These FFA are then oxidated through the activity of peroxidases, provoking bran's rancidity. Several processes have been studied to inactivate these enzymes, from thermal and chemical treatments to storage in controlled atmospheres, at low temperatures, and simultaneous blanching and extraction. Such processes eliminate or reduce its activity.

One of these chemical processes can inactivate lipases, extrusion (Solís-Fuentes and Durán-de-Bazúa, 1990). This process increases temperature of the extruded material due to the changing of mechanical energy into heat (friction), besides increasing the inner pressure characteristics within the extruder barrel where the screw is (Figure 1).

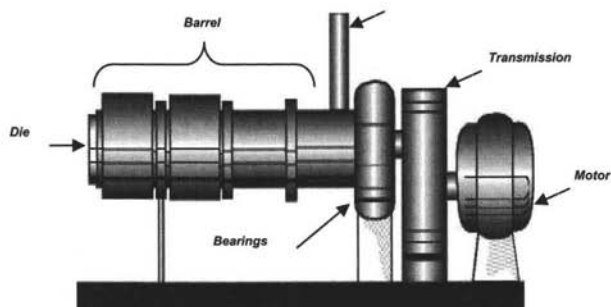


Figure 1. Extruder parts

Shear stress within the extruder generates mechanical energy that is transformed into heat. Also, thermoplastic foodstuffs when extruded due to its viscous properties resist to these shear stresses and heat due to friction losses is produced. Resulting energy is proportional to its viscosity, to the square value of the screw diameter and its rotational speed (in rpm), and to the "wet" length of the screw (the screw portion "filled" with the foodstuff, known as extrusion section, in contrast with the portion of the screw partially filled located in the feeding section, where no friction losses are considerable). Mechanical energy transformation into heat is proportional to the relative depth of the screw channel, especially in single screw extruders (Sánchez-Tovar et al., 2000).

The foodstuff properties play an important role for this viscous behavior during extrusion, and among the variables that influence these mechanical properties are moisture content and pH values. The objective of this research was to evaluate the effect of these two variables to reduce the formation of free fatty acids, FFA during the extrusion of rice bran.

Experimental

Rice bran composition

Rice bran was collected in a commercial rice plant in the State of Morelos, Mexico. Rice processed in this commercial establishment is known as Morelos variety. Bromatological analyses of the samples were carried out (AOAC, 1990).

Extrusion assays

A single screw low cost extruder was used for extruding the samples. Extruder characteristics and its operating conditions were presented elsewhere (Sánchez-Tovar et al., 2000; Solís-Fuentes and Durán-de-Bazúa, 1990). The samples were prepared into moisture and pH values according with the experimental model described below.

Experimental model

One experimental factorial design 3^2 was used (Box et al., 1989). The free fatty acids percentages (FFA) of extruded samples were the dependent variable, and initial moisture content and pH were the independent variables. For the latter, the stabilization by extrusion of the samples with acid and alkaline ranges was analyzed and HCl or Ca(OH)₂ at different concentrations were added to the bran samples, according to Tables 1 and 2. Statistical analysis from results was carried out to determine significant differences among them. A factorial design of nine samples for each pH range, and duplicate, was obtained (Fabila, 1991):

T₀= Non extruded rice bran (control A)

T_f= Extruded rice bran without any water addition (control B)

H1= Extruded rice bran with an initial moisture content of 20%, dry basis

H2= Extruded rice bran with an initial moisture content of 30%, dry basis

H3= Extruded rice bran with an initial moisture content of 40%, dry basis

Table 1. Extruded rice bran at acid range
(with initial additions of HCl diluted with water)

C1= 1% HCl d.b.	H1= 20% Moisture content, d.b. H2= 30% Moisture content, d.b. H3= 40% Moisture content, d.b.
C2= 5% HCl d.b.	H1= 20% Moisture content, d.b. H2= 30% Moisture content, d.b. H3= 40% Moisture content, d.b.
C3= 10% HCl d.b.	H1= 20% Moisture content, d.b. H2= 30% Moisture content, d.b. H3= 40% Moisture content, d.b.

Samples preparation

Rice bran samples of $2,000.0 \pm 1.0$ g were mixed with $\text{Ca}(\text{OH})_2$ water suspensions or with HCl solutions in a double helix “Komax” mixer rotating at a speed of 70 rpm, during 10 minutes. Samples were stored in black polyethylene bags to avoid sunlight effects at 4°C before extrusion. After extrusion, the samples, including the non extruded control were stored in a lab at room temperature, $25 \pm 3^\circ\text{C}$, and an average relative humidity of 80 percent, during 120 days.

Table 2. Extruded rice bran at alkaline range
(with initial additions of $\text{Ca}(\text{OH})_2$ suspended in water)

C1= 1% $\text{Ca}(\text{OH})_2$ d.b.	H1= 20% Moisture content, d.b. H2= 30% Moisture content, d.b. H3= 40% Moisture content, d.b.
C2= 5% $\text{Ca}(\text{OH})_2$ d.b.	H1= 20% Moisture content, d.b. H2= 30% Moisture content, d.b. H3= 40% Moisture content, d.b.
C3= 10% $\text{Ca}(\text{OH})_2$ d.b.	H1= 20% Moisture content, d.b. H2= 30% Moisture content, d.b. H3= 40% Moisture content, d.b.

Free fatty acids, FFA, measurements

Free fatty acids liberated from extruded samples and the non-extruded sample control were measured along the storage period. FFA were extracted from bran samples and mixed with copper acetate to produce a colored compound (Figure 2), that was measured in a lab Spectronic 21D spectrophotometer (Ducombe, 1963; Stauffer, 1989). This colored complex has a maximum absorption at 715 nm. These authors recommend the use of isooctane as solvent for the extraction step but considering laboratory conditions ethyl ether was employed. Some preliminary tests were done to corroborate if using this solvent the same wave length could be used. No buffering solutions were added to the extracts.

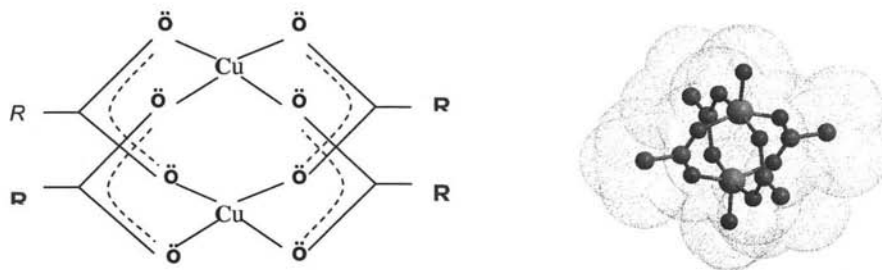


Figure 2. Free fatty acids and copper acetate complex

Results and discussion

Bromatological analyses indicated that lipids content for this particular bran is relatively low, less than 10% (Table 3).

After $\text{Ca}(\text{OH})_2$ and/or HCl additions, pH values of the samples were measured (Table 4). A spectrometric scanning was carried out to corroborate the maximum wavelength absorption for the copper complex (Figure 3). Maximum wave length was 660 nm. However, at this wavelength ether is also absorbed, and to avoid solvent interferences, an adjustment considering the solvent measurement was carried out, giving a maximum λ for the complex of 715 nm (Figure 4).

Table 3. Bromatological analyses for Morelos rice bran

Characteristics	Results, in %
Moisture content	14.20
Ash	5.47
Crude fiber	8.34
Proteins (using 6.25 as factor)	11.43
Ether extract (crude fat)	9.15
Saponification index (mgKOH g^{-1} oil)	191.43
Titrate acidity	0.0499
Percent of free fatty acids ($\text{g FFA}/100 \text{ g bran}$)	0.0251

Table 4. Values of pH for rice bran samples after addition of HCl or $\text{Ca}(\text{OH})_2$

Concentration	Sample Codification	pH
Without HCl or $\text{Ca}(\text{OH})_2$	Control samples	6.80
1% HCl	C1	6.46
5% HCl	C2	4.45
10% HCl	C3	2.22
1% $\text{Ca}(\text{OH})_2$	C1	6.99
5% $\text{Ca}(\text{OH})_2$	C2	8.70
10% $\text{Ca}(\text{OH})_2$	C3	9.44

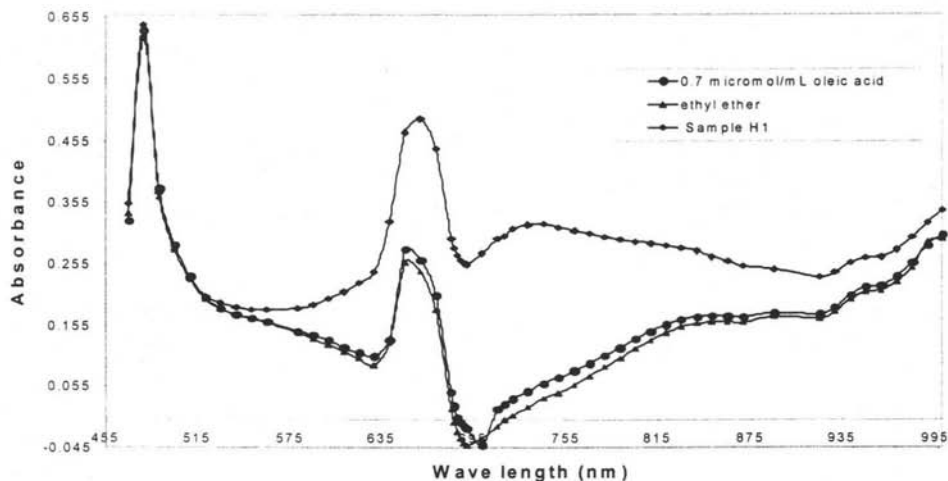


Figure 3. Spectrophotometric scanning of the free fatty acids, FFA-copper complex

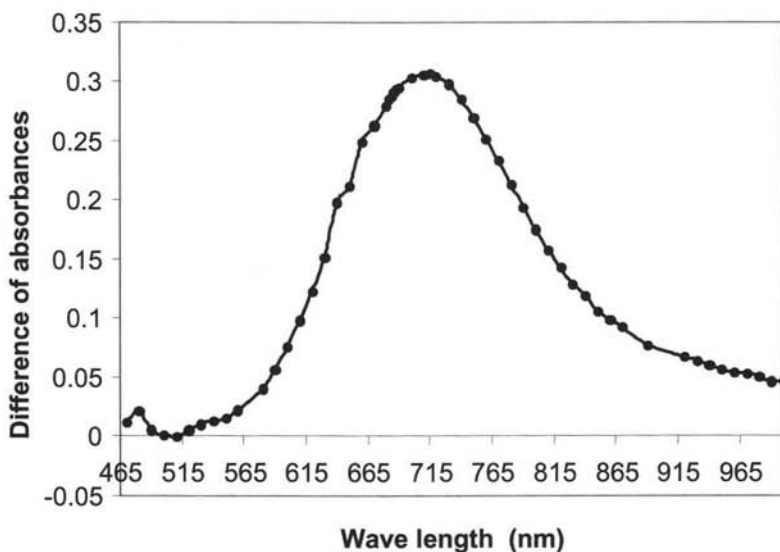


Figure 4. Free fatty acids, FFA-Copper complex maximum absorption

Statistical analysis showed no significant differences with respect to moisture contents in samples where pH values were modified.

Figures 5 and 6 show the simple effect of moisture contents and initial pH values for rice bran free fatty acids during storage.

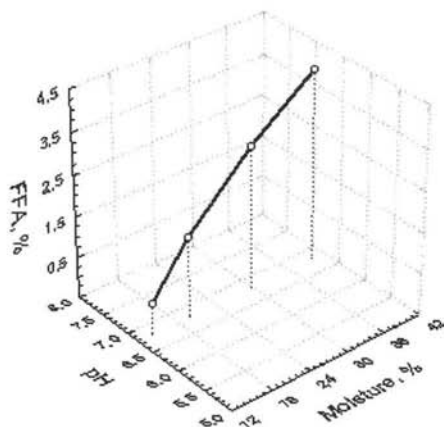


Figure 5. Initial moisture effect on free fatty acids formation, FFA, of extruded rice bran samples, without chemical treatment (acid or alkali addition), after 98 days of storing

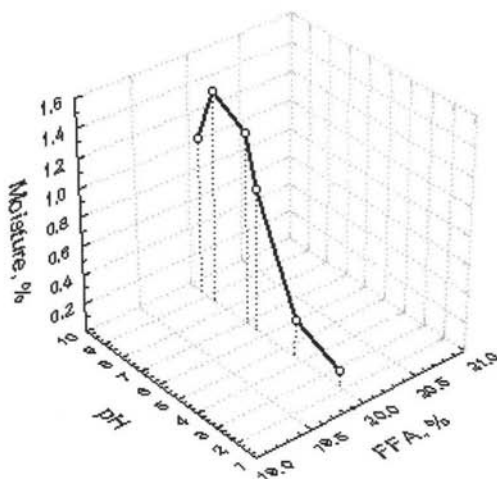


Figure 6. Effect of pH changes with chemical treatment (acid or alkali addition) on free fatty acids formation, FFA, for extruded and chemically treated rice bran samples

Table 3 presents the effect of the stabilization treatments on free fatty acids formation after 98 days storage for rice bran chemically treated samples. It can be observed that samples with no treatment or extrusion that had an initial FFA contents of 0.18 percent were totally rancid after these 98-day storage time.

Samples subjected to extrusion without chemical treatment showed an increase in FFA contents as initial moisture contents increased. Rice bran with 40 cent initial moisture contents after the 98-day storage time had 4.13% FFA

The combined effect of chemical treatment (acid or alkali addition) with extrusion (thermal treatment) was determinant for the stabilization of rice bran lipids. Table 3 data show that FFA were no higher than 1.71% after these treatments in the 98-day storage time at lab environmental conditions. The most favorable effect was found with acid treatment at a pH value of 2.2 and a moisture contents of 40%, that allowed the 98-day rice bran storage time with less than 0.1% of FFA.

Gathered data indicate that HCl treated samples are more stable than $\text{Ca}(\text{OH})_2$ treated ones. Literature indicates that rice bran lipases become more active in the presence of Ca^{2+} ions low concentrations (Aizono et al., 1976), and these results confirm this fact.

Surface response analyses corroborate that HCl solutions that give low pH values render the lowest FFA concentrations. Figure 7 is an example of the surface response analysis, and in this case for HCl addition, it can be observed that only near neutrality moisture content has an effect on FFA concentrations increase. The extruded control samples without the

addition of either acid or alkali or water have low FFA concentrations along the storage period indicating that extrusion *per se* inactivates enzymes and limits oil deterioration. Figure 8 shows a contour map of % FFA of rice bran with chemical and extrusion treatment after the 98-day storage time.

Table 3. Effect of stabilization treatment on rice bran free fatty acids developed after 0-98 days of storage

N	Thermal treatment	Moisture	Chemical Treatment		pH	% Free fatty acids			
			[Ca(OH) ₂]	[HCl]		0 days	7	21	98 days
1	Non-extruded	14.20			6.80	0.14	1.88	3.80	5.39 Rancid
2	Extruded	14.20			6.80	0.14	0.17	0.18	0.24
3	Extruded	20			6.80	0.16	0.21	0.85	1.46
4	Extruded	30			6.80	0.40	1.44	1.95	2.96
5	Extruded	40			6.80	0.21	0.52	1.17	4.13
6	Extruded	20	1		6.99	0.25	0.41	0.66	1.31
7	Extruded	30	1		6.99	0.27	0.42	0.66	1.22
8	Extruded	40	1		6.99	0.30	0.39	0.64	1.38
9	Extruded	20	5		8.70	0.44	0.47	0.89	1.46
10	Extruded	30	5		8.70	0.65	0.68	0.97	1.23
11	Extruded	40	5		8.70	0.93	1.05	1.17	1.29
12	Extruded	20	10		9.44	0.48	0.53	1.02	1.08
13	Extruded	30	10		9.44	0.44	0.52	0.94	1.16
14	Extruded	40	10		9.44	0.48	0.79	1.36	1.71
15	Extruded	20		1	6.46	0.23	0.26	0.41	0.98
16	Extruded	30		1	6.46	0.15	0.32	0.46	0.91
17	Extruded	40		1	6.46	0.15	0.18	0.31	0.52
18	Extruded	20		5	4.45	0.19	0.23	0.24	0.25
19	Extruded	30		5	4.45	0.11	0.12	0.16	0.21
20	Extruded	40		5	4.45	0.06	0.10	0.18	0.30
21	Extruded	20		10	2.22	0.05	0.07	0.09	0.11
22	Extruded	30		10	2.22	0.03	0.05	0.11	0.15
23	Extruded	40		10	2.22	0.06	0.08	0.09	0.10

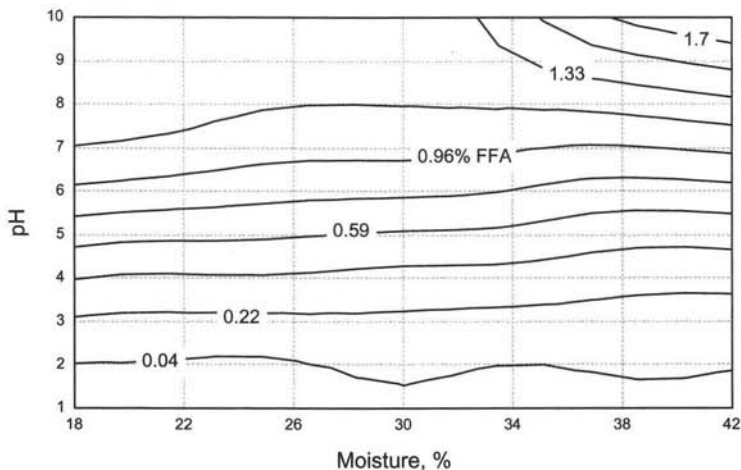


Figure 7 Contour map of moisture vs pH for FFA percent increase (extruded and chemically treated rice bran samples)

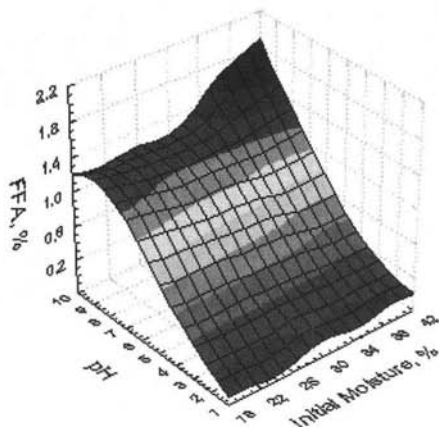


Figure 8. Surface response for HCl rice bran treated extruded samples

Conclusions

Oil contents in studied Morelos rice bran is somewhat low with respect to references found for other rice varieties. Methodology employed for measuring the increase in FFA concentrations was relatively simple and, after some adjustments to obtain more accurate

results, rendered good results, comparable with those reported in literature. Addition of a low cost acid (HCl) proved to be beneficial for hampering the FFA formation. Initial moisture contents of acidified samples has no significant effects on FFA increase after extrusion, and this procedure looks interesting, especially when using low-cost single screw extruders that can be constructed in emerging economies countries by local technicians. The use of lime-in-water suspensions during extrusion was not adequate because the calcium ions promote the activity of lipases increasing the concentrations of FFA during storage at room temperature.

Acknowledgements

Authors acknowledge Dr. Jorge Gutiérrez from INIFAP Morelos valuable academic support, and Mr. Enrique Peralta, from Molino San José, in Zacatepec, Morelos, Mexico, the donation of rice bran samples, as well as his valuable logistic support.

References

- Aizono, Y., Funatsu, M., Fujiki, Y. 1976. Purification and characterization of rice bran lipase II. *Agr. Biol. Chem.*, 40(2):317-324.
- AOAC. (1990). *Official Methods of Analysis*. Association of Official Analytical Chemists. Washington, DC, USA.
- Barber, S., Benedito-de-Barber, C. 1977. Basic and applied research needs for optimizing the utilization of rice bran as food and feed. En *Process of rice by-products utilization*. Pub. Instituto de Agricultura y Tecnología de Alimentos. Valencia, España.
- Box, G. E. P., Hunter, W. G., Hunter, J. S. (1989). *Estadística para investigadores. Introducción al diseño de experimentos, análisis de datos y construcción de modelos*. Ed. Reverté. Madrid, Spain.
- Ducombe, W.G. 1963. The colorimetric microdetermination of long chain fatty acid. *Biochem. J.*, 88:7.
- Fabila, G.R. (1991). *Métodos numéricos en diseño de experimentos industriales*. Apuntes de la Cátedra de Diseño de Experimentos impartida por el Ing. Gilberto Fabila, Profesor "A" del Posgrado en Ciencias de Alimentos (Ingeniería) Departamento de Alimentos y Biotecnología, Facultad de Química, UNAM, Mexico D.F. Mexico.
- Sánchez-Tovar, S.A., Salazar-Zazueta, A., Mena-Iniesta, B., Durán de Bazúa, C. (2000). Cinética de reacción para la gelatinización bajo tratamiento térmico alcalino de almidón de maíz en un extrusor considerado como un reactor continuo de flujo tipo pistón. *Tecnol. Ciencia Ed. (IMIQ, Mex)*, 15(2):90-101.
- Solís-Fuentes, J.A., Durán-de-Bazúa, C. 1990. Estudio del efecto de la extrusión sobre la estabilidad y calidad nutricia de esquilmos agropecuarios y subproductos agroindustriales. Caso tipo: Extrusión de salvado de arroz. *Memorias XXX Convención Nacional del IMIQ*. Eds. A. Anaya, O. Canales, H. Gómez, J. Bellido, L. Miramontes. Tomo I. Pp. 86-94. Instituto Mexicano de Ingenieros Químicos. Guadalajara, Jal. México.
- Stauffer, C. E. 1989. *Enzyme assays for food scientists*. Van Nostrand Reinhold Pub. Co., New York, USA.