

ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL

**FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA Y
AGROINDUSTRIA**

**DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES FÍSICO – QUÍMICAS Y
FUNCIONALES DEL AISLADO E HIDROLIZADO ENZIMÁTICO DE
LA PROTEÍNA DE SOYA A ESCALA PILOTO, PARA APLICACIÓN
EN ALIMENTOS**

**PROYECTO PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
INGENIERA AGROINDUSTRIAL**

CARLA ALEJANDRA AVILA ZAPATA
alejandra9_20@hotmail.com

DIRECTOR: ING. OSWALDO ACUÑA
oswaldo.acuna@epn.edu.ec

Quito, Abril 2011

DERECHOS DE AUTOR

© Escuela Politécnica Nacional 2011

Reservados todos los derechos de reproducción

DECLARACIÓN

Yo, Carla Alejandra Avila Zapata, declaro que el trabajo aquí descrito es de mi autoría; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

La Escuela Politécnica Nacional puede hacer uso de los derechos correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su Reglamento y por la normativa institucional vigente.

Carla Alejandra Avila Zapata

CERTIFICACIÓN

Certifico que el presente trabajo fue desarrollado por la Srta. Carla Alejandra Avila Zapata, bajo mi supervisión.

Ing. Oswaldo Acuña
DIRECTOR DE PROYECTO

AGRADECIMIENTOS

Primero quiero agradecer a Dios por bendecirme a lo largo de mi vida y permitirme cumplir una más de mis metas.

A mis padres Yolanda y Julio por ser un ejemplo de vida y brindarme todo el amor, apoyo y confianza en mis decisiones personales y profesionales.

A mi hermano Alejandro y mi abuelita Piedad por todo su amor y apoyo que me han brindado a lo largo de esta etapa tan importante en mi vida.

A mis tíos y tías, con especial cariño a mi tía Teresita, que siempre me aconsejó para ser mejor cada día, a mis primos y primas por ser una fuente más de inspiración y dedicación.

Con grato cariño y agradecimiento al Ing. Oswaldo Acuña por brindarme su amistad, apoyo y paciencia a lo largo de mi proyecto, gracias por toda la dedicación prestada.

Al Dr. Patricio Castillo, miembro del tribunal examinador, por brindarme su tiempo y dedicación a la revisión de mi tesis.

A la Ing. Villacrés, por su dedicación, tiempo y enseñanzas que me impartió a lo largo de este trabajo.

Al Departamento de Ciencia y Biotecnología de alimentos (DECAB), por brindarme la oportunidad de desarrollar mi proyecto de titulación en cada una de sus instalaciones, Ing. Silvia Valencia, Ing. Elena Coyago, Dra. Rosario Barrera, Dra. Irma Paredes, Ing. Pablo Pólit, Sra. Margarita Rosero. Mis más sentidos agradecimientos. Al Sr. Germán Romo, Sr. Héctor Ortiz, Don Camilo por toda su colaboración, y ayuda acertada, gracias a todos sus conocimientos.

Al Ing. Oswaldo Proaño por su amistad y colaboración en la parte experimental de mi proyecto.

Con especial cariño a mis amigos del colegio, por todo su apoyo y amistad que me han brindado durante todo este tiempo, Cris, Elsitita, Anita María, Pao, Sandra, Paúl, Oscar, gracias por su amistad incondicional y por acompañarme siempre en cada una de las etapas de mi vida.

A mis grandes amigas y compañeras de la universidad Liseth, Ale y Dany que me han brindado su amistad sincera y han sido un gran pilar a lo largo de mi carrera. Gracias amigas por todo lo vivido y aprendido, por sus buenos consejos, su apoyo y sus deseos sinceros.

A Vero, por ser más que una amiga una hermana, que me apoyado siempre y en cada momento de mi vida que lo he necesitado. Gracias por todo amiga.

DEDICATORIA

A la persona más importante en mi vida, mi madre Yolita.

Por ser un ejemplo de superación y dedicación, gracias a sus consejos y amor he podido culminar una de las etapas más importantes de mi vida.

A mi madre le dedico el fruto de mi trabajo, algo que le entrego con gran dedicación y profundo amor. Gracias por todo y por estar siempre a mi lado para levantarme y seguir apoyándome.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

	PÁGINA
ÍNDICE DE CONTENIDOS	I
RESUMEN	XIII
INTRODUCCIÓN	XIV
1 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	1
1.1 Propiedades generales de las proteínas	1
1.1.1 Proteínas	1
1.1.1.1 Aminoácidos	1
1.1.1.2 Clasificación de los aminoácidos	2
1.1.1.3 Propiedades ácido básicas de los aminoácidos	3
1.1.1.4 Reacciones químicas	4
1.1.2 Clasificación de las proteínas	6
1.1.3 Estructura y conformación proteica	8
1.1.3.1 Estructura primaria	8
1.1.3.2 Estructura secundaria	8
1.1.3.3 Estructura terciaria	10
1.1.3.4 Estructura cuaternaria	11
1.1.4 Propiedades de las proteínas	12
1.1.4.1 Punto isoelectrico	12
1.1.4.2 Migración electroforética de las proteínas	13
1.1.4.3 Interacciones proteína - agua	13
1.1.4.4 Interacciones proteína - proteína	13
1.1.4.5 Interacciones proteína - lípido	13
1.1.4.6 Hidrofobicidad	14
1.1.4.7 Desnaturalización	14
1.1.5 Hidrólisis de péptidos y proteínas	15
1.1.6 Valor biológico de las proteínas	16
1.2 Generalidades de la proteína de soya	17
1.2.1 Clasificación y Nomenclatura	17
1.2.2 Calidad nutricional de la proteína de soya	18
1.2.2.1 Composición aminoacídica	18
1.2.2.2 Digestibilidad proteica	19
1.2.3 La proteína de soya como ingrediente funcional	19
1.3 Productos de soya en alimentos	20
1.3.1 Harina de soya	20
1.3.2 Productos texturizados de proteína de soya	20
1.3.3 Aislados de proteína de soya	21
1.3.4 Hidrolizados de proteína de soya	22
1.3.5 Composición química de los productos de proteína de soya	22
1.3.6 Propiedades funcionales	23
1.3.6.1 Solubilidad	25
1.3.6.2 Absorción de agua	27

1.3.6.3	Absorción de aceite	28
1.3.6.4	Gelificación	29
1.3.6.5	Viscosidad	30
1.3.6.6	Propiedades emulsificantes	31
1.3.6.7	Propiedades espumantes	34
1.3.7	Aplicaciones de los aislados e hidrolizados de proteína de soya	35
2	MATERIALES Y MÉTODOS	36
2.1	Materiales	36
2.1.1	Materia prima	36
2.1.2	Equipos y Reactivos	36
2.1.2.1	Materiales	36
2.1.2.1	Equipos	37
2.2	Caracterización físico química de la harina desengrasada de soya	38
2.2.1	Preparación de la harina de soya	38
2.2.2	Caracterización de la harina desengrasada de soya	38
2.2.2.1	Caracterización física	38
2.2.2.2	Caracterización química	38
2.3	Elaboración de aislados e hidrolizados enzimáticos de proteína de soya	40
2.3.1	Elaboración del aislado proteico de soya	40
2.3.1.1	Extracción básica	41
2.3.1.2	Precipitación ácida	41
2.3.2	Elaboración del hidrolizado enzimático de proteína de soya	41
2.4	Caracterización físico química del aislado e hidrolizado de proteína de soya	42
2.4.1	Caracterización física	42
2.4.2	Caracterización química	43
2.5	Determinación de las propiedades funcionales del aislado e hidrolizado de la proteína de soya	43
2.5.1	Solubilidad	44
2.5.2	Capacidad de absorción de agua	44
2.5.3	Capacidad de absorción de aceite	45
2.5.4	Gelificación	45
2.5.5	Viscosidad	46
2.5.6	Capacidad y estabilidad de emulsión	46
2.5.7	Capacidad y estabilidad de espuma	48
2.6	Determinación de los usos de la proteína de soya como ingrediente funcional para propósitos alimenticios	49

3	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	50
3.1	Caracterización físico química de la harina desengrasada de soya	50
3.1.1	Caracterización física	50
3.1.1.1	Análisis granulométrico	50
3.1.1.2	Densidad	50
3.1.2	Caracterización química	51
3.2	Obtención del aislado e hidrolizado enzimático de la proteína de soya	51
3.2.1	Obtención del aislado proteico de soya	51
3.2.1.1	Rendimiento del proceso	51
3.2.2	Obtención del hidrolizado de soya por vía enzimática	53
3.2.2.1	Rendimiento del proceso	54
3.3	Caracterización físico – química del aislado e hidrolizado de proteína de soya	55
3.3.1	Caracterización física del aislado	55
3.3.1.1	Análisis granulométrico	55
3.3.1.2	Densidad	56
3.3.2	Caracterización química del aislado	56
3.3.2.1	Perfil de aminoácidos	57
3.3.3	Caracterización física del hidrolizado	59
3.3.3.1	Análisis granulométrico	59
3.3.3.2	Densidad	59
3.3.4	Caracterización química del hidrolizado	60
3.4	Determinación de las propiedades funcionales del aislado e hidrolizado de proteína de soya	60
3.4.1	Solubilidad	61
3.4.2	Capacidad de absorción de agua	62
3.4.3	Capacidad de absorción de aceite	63
3.4.4	Gelificación	64
3.4.5	Viscosidad	66
3.4.5.1	Efecto de la concentración en la viscosidad	66
3.4.5.2	Efecto del pH en la viscosidad	68
3.4.5.3	Efecto de la temperatura en la viscosidad	69
3.4.6	Capacidad y estabilidad de emulsificación	70
3.4.6.1	Efecto de la concentración en la capacidad de emulsión	70
3.4.6.2	Efecto del pH en la capacidad y estabilidad de emulsión	72
3.4.7	Capacidad y estabilidad de espuma	74
3.4.7.1	Efecto de la concentración en la capacidad y estabilidad de espuma	74
3.4.7.2	Efecto del pH en la capacidad y estabilidad de espuma	77
3.4.7.3	Efecto iónico en la capacidad y estabilidad de espuma	80
3.5	Determinación de los usos del aislado e hidrolizado de proteína de soya según sus propiedades funcionales para aplicar en alimentos	84
3.5.1	Solubilidad	85
3.5.2	Capacidad de absorción de agua	87

3.5.3	Capacidad de absorción de aceite	89
3.5.4	Gelificación	89
3.5.5	Viscosidad	90
3.5.6	Capacidad y estabilidad de emulsión	91
3.5.7	Capacidad y estabilidad de espuma	93
4	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	95
4.1	Conclusiones	95
4.2	Recomendaciones	97
	BIBLIOGRAFÍA	98
	ANEXOS	105

ÍNDICE DE TABLAS

		PÁGINA
Tabla 1.	Clasificación general de las proteínas	7
Tabla 2.	Las proteínas y su función biológica	16
Tabla 3.	Composición de aminoácidos esenciales en la proteína de soya	18
Tabla 4.	Digestibilidad de productos de proteína de soya	19
Tabla 5.	Composición química (%) de los productos de proteína de soya	23
Tabla 6.	Propiedades de las proteínas responsables de la funcionalidad de alimentos	24
Tabla 7.	Técnicas analíticas aplicadas para la determinación de la composición proximal de la harina, aislado e hidrolizado de soya	39
Tabla 8.	Composición proximal de la harina de soya desengrasada (g/100 g)	51
Tabla 9.	Composición proximal del aislado proteico de soya (g/100 g)	57
Tabla 10.	Perfil de aminoácidos de la harina, aislado e hidrolizado de la proteína de soya expresados en (g de aminoácidos /100 g de proteína)	58
Tabla 11.	Composición proximal del hidrolizado de proteína de soya (g/100 g)	60
Tabla 12.	Formación de geles en función de la concentración del aislado e hidrolizado de soya (mL de agua separada)	65
Tabla 13.	Propiedades funcionales de productos de proteína de soya en algunos alimentos	85
Tabla 14.	Requerimientos de solubilidad de la proteína de soya para aplicaciones alimenticias seleccionadas	86
Tabla 15.	Capacidad de absorción – retención de agua para diversas proteínas	88
Tabla 16.	Índice de actividad emulsionante de diversas proteínas (m ² de interfase estabilizada por g de proteína utilizada en la prueba)	92
Tabla 17.	Comparación del poder espumante (%) de proteínas de solución	94
Tabla 18.	Perfil granulométrico de la harina de soya desengrasada	107
Tabla 19.	Perfil granulométrico del aislado proteico de soya	108
Tabla 20.	Perfil granulométrico del hidrolizado enzimático de soya	108

Tabla 21.	Porcentaje recuperación de proteína y rendimiento en peso del aislado e hidrolizado de la proteína de soya	109
Tabla 22.	Porcentaje de grado de hidrólisis durante el proceso hidrolítico por la acción secuencial de las enzimas papaína y flavourzyme	109
Tabla 23.	Datos experimentales de la solubilidad del aislado e hidrolizado de soya	110
Tabla 24.	Capacidad de absorción de agua en el aislado e hidrolizado enzimático de soya en función del pH (g agua/g proteína)	111
Tabla 25.	Capacidad de absorción de aceite del aislado e hidrolizado enzimático de soya en función del tiempo de exposición (g aceite / g proteína)	112
Tabla 26.	Viscosidad (cP) del aislado e hidrolizado de soya en función de la concentración	113
Tabla 27.	Viscosidad (cP) del aislado e hidrolizado de soya en función del pH	114
Tabla 28.	Viscosidad (cP) del aislado e hidrolizado de soya en función de la temperatura	115
Tabla 29.	Capacidad de emulsificación del aislado e hidrolizado de soya en función de la concentración (mL aceite / g proteína)	116
Tabla 30.	Capacidad de emulsión del aislado e hidrolizado de soya en función del Ph	117
Tabla 31.	Estabilidad de emulsión del aislado e hidrolizado de soya en función del pH (%)	118
Tabla 32.	Capacidad de formación de espuma del aislado e hidrolizado proteico de soya en función de la concentración (%)	119
Tabla 33.	Estabilidad de espuma del aislado proteico de soya en función de la concentración (%)	120
Tabla 34.	Estabilidad de espuma del hidrolizado enzimático de soya en función del pH (%)	120
Tabla 35.	Capacidad de formación de espuma del aislado e hidrolizado de soya en función del pH	121
Tabla 36.	Estabilidad de espuma del aislado proteico de soya en función del pH (%)	122

Tabla 37.	Estabilidad de espuma del hidrolizado enzimático de soya en función del pH (%)	122
Tabla 38.	Capacidad de formación de espuma del aislado e hidrolizado proteico de soya en función del efecto iónico (%)	123
Tabla 39.	Estabilidad de espuma del aislado de proteína de soya en función del efecto iónico (%)	124
Tabla 40.	Estabilidad de espuma del hidrolizado enzimático de soya en función del efecto iónico (%)	125

ÍNDICE DE FIGURAS

		PÁGINA
Figura 1.	Estructura general de los aminoácidos	2
Figura 2.	Reacción del grupo carboxilo de un aminoácido	5
Figura 3.	La reacción de la ninhidrina del grupo amino de un aminoácido	5
Figura 4.	Oxidación de cisteína a cistina	6
Figura 5.	Niveles de organización de las proteínas	12
Figura 6.	Preparación de aislados de proteína de soya desde harina de soya desengrasada	21
Figura 7.	Factores y fuerzas involucradas en la determinación de las propiedades funcionales de las proteínas	24
Figura 8.	Solubilidad de diversas preparaciones proteicas en NaCl 0.2 M en función del pH	26
Figura 9.	Absorción de agua de diversos polvos proteicos en función del tiempo	27
Figura 10.	Etapas de la formación de espuma	34
Figura 11.	Diagrama de flujo del proceso de obtención de aislado de soya a escala piloto	40
Figura 12.	Diagrama de flujo del proceso de obtención del hidrolizado de soya	42
Figura 13.	Perfil granulométrico de la harina de soya desengrasada	50
Figura 14.	Balance de masa para la obtención del aislado de soya	52
Figura 15.	Grado de hidrólisis (GH) producido por la acción secuencial de las enzimas papaína y flavourzyme	53
Figura 16.	Balance de masa para la obtención del hidrolizado de soya	55
Figura 17.	Perfil granulométrico del aislado proteico de soya	56
Figura 18.	Perfil granulométrico del hidrolizado enzimático de soya	59
Figura 19.	Perfil de solubilidad del aislado e hidrolizado de la proteína soya	61

Figura 20.	Capacidad de absorción de agua del aislado e hidrolizado de la proteína de la soya	62
Figura 21.	Capacidad de absorción de aceite del aislado e hidrolizado de la proteína de la soya	64
Figura 22.	Efecto de la concentración en la viscosidad en el aislado e hidrolizado de la proteína de soya	67
Figura 23.	Efecto del pH en la viscosidad del aislado e hidrolizado de la proteína de soya	68
Figura 24.	Efecto de la temperatura en la viscosidad del aislado e hidrolizado de la proteína de soya	69
Figura 25.	Efecto de la concentración en la capacidad emulsionante en el aislado e hidrolizado de proteína de soya	71
Figura 26.	Efecto del pH en la capacidad emulsionante en el aislado e hidrolizado de proteína de soya	72
Figura 27.	Estabilidad de emulsión del aislado e hidrolizado de proteína de soya en función del pH	73
Figura 28.	Efecto de la concentración sobre la capacidad de formación de espuma del aislado e hidrolizado de la proteína de soya	75
Figura 29.	Efecto de la concentración sobre la estabilidad de espuma en el aislado proteico de soya	76
Figura 30.	Efecto de la concentración sobre la estabilidad de espuma del hidrolizado enzimático de soya	77
Figura 31.	Efecto del pH en la capacidad de formación de espuma en el aislado e hidrolizado de la proteína de soya	78
Figura 32.	Efecto del pH sobre la estabilidad de espuma del aislado proteico de soya	79
Figura 33.	Efecto del pH sobre la estabilidad de espuma del hidrolizado enzimático de soya	80
Figura 34.	Efecto iónico [NaCl] en la capacidad de formación de espuma en el aislado e hidrolizado de la proteína de soya	81
Figura 35.	Efecto iónico [NaCl] sobre la estabilidad de espuma del aislado proteico de soya	82

- Figura 36.** Efecto iónico [NaCl] sobre la estabilidad de espuma del hidrolizado enzimático de soya 83
- Figura 37.** Aislado proteico de soya (a) extracción a pH 9.5; (b) proceso de centrifugado; (c) aislado en pasta; (d) aislado liofilizado y molido 126
- Figura 38.** Hidrolizado enzimático de soya (a) aplicación de la papaína con tiempo de reacción de 20 minutos; (b) aplicación de la flavourzyme con un tiempo de reacción de 40 minutos; (c) inactivación enzimática a T 90 °C; (d) hidrolizado liofilizado y molido 127

ÍNDICE DE ANEXOS

	PÁGINA
ANEXO I	
Método para la determinación del índice de proteína dispersible (P.D.I)	106
ANEXO II	
Método para la determinación del perfil de aminoácidos	107
ANEXO III	
Perfil granulométrico de la harina, aislado e hidrolizado de proteína de soya	107
ANEXO IV	
Porcentaje de recuperación de proteína y rendimiento en peso del aislado e hidrolizado de proteína de soya	109
ANEXO V	
Porcentaje de grado de hidrólisis en el proceso hidrolítico	109
ANEXO VI	
Datos experimentales de la solubilidad del aislado e hidrolizado de la proteína de soya	110
ANEXO VII	
Datos experimentales de la capacidad de absorción de agua en el aislado e hidrolizado de la proteína de soya	111
ANEXO VIII	
Datos experimentales de la capacidad de absorción de aceite en el aislado e hidrolizado de la proteína de soya, en función del tiempo de exposición	112
ANEXO IX	
Datos experimentales de la viscosidad (cP) del aislado e hidrolizado de la proteína de soya en función de la concentración, pH y temperatura	113
ANEXO X	
Datos experimentales de la capacidad de emulsificación del aislado e hidrolizado de la proteína de soya en función de la concentración y pH	116
ANEXO XI	
Datos experimentales de la capacidad de formación y estabilidad de espuma del aislado e hidrolizado de la proteína de soya en función de la concentración	119
ANEXO XII	
Datos experimentales de la capacidad de formación y estabilidad de espuma del aislado e hidrolizado de la proteína de soya en función del pH	121

ANEXO XIII	
Datos experimentales de la capacidad y estabilidad de espuma del aislado e hidrolizado de proteína de soya en función del efecto iónico	123
ANEXO XIV	
Proceso de obtención y elaboración del aislado proteico de soya	126
ANEXO XV	
Proceso de obtención y elaboración del hidrolizado enzimático de soya	127

RESUMEN

El presente trabajo tuvo como objetivo determinar las propiedades físicas químicas y funcionales de la proteína de soya, a partir de la harina desengrasada proporcionada por la empresa Grasas Unicol, cuyos contenidos nutricionales (proteína 54.54 %, extracto etéreo 0.49 %), son apropiados para la elaboración de aislados e hidrolizados enzimáticos. La obtención del aislado a escala piloto se realizó bajo las siguientes condiciones, relación sólido / líquido 1:6, extracción básica a pH 9.5, precipitación ácida a pH 4.5, con un tiempo de agitación de 30 min y centrifugación a 12 000 rpm. El valor de la proteína alcanzado en el aislado fue del 85.45 % y un (PDI) del 88.43 %, con un rendimiento en peso del 24.55 %, debido a la eliminación de carbohidratos solubles. Para la reacción hidrolítica enzimática secuencial se utilizó como sustrato el aislado proteico y las enzimas papaína y flavourzyme a concentraciones de 0.025 UA/ g de sustrato y 40 LAPU/ g de sustrato, a pH 7.0 y a temperatura de 50 °C con un tiempo de reacción total en agitación de 1 h, al término de la cual se inactivó las enzimas a una temperatura de 90 °C por 10 min, el producto fue congelado y liofilizado. La valoración del hidrolizado registró valores de proteína 88.53 %, grasa 0.20 %, con un rendimiento en peso del 87.13 % con respecto al aislado. El valor del (PDI), fue del 85.24 %. El grado de hidrólisis fue del 22.07 %, valor que permite clasificarlo como, un hidrolizado extensivo. La determinación de las propiedades funcionales tiene su importancia para la aplicación en alimentos con características especiales. La máxima solubilidad del aislado y del hidrolizado fue del orden del 90 % y 80 % respectivamente. La mayor capacidad de absorción de agua para el hidrolizado fue del 2.45 g agua / g proteína a pH 10.0. En la capacidad de absorción de aceite no hubo una diferencia significativa entre el aislado e hidrolizado, con relación al tiempo de exposición. La propiedad de viscosidad es directamente proporcional con el aumento de la concentración de proteína, y reportó valores máximos de 111.19 cP para el aislado y 128.56 cP para el hidrolizado. El aislado permitió obtener geles de mejor consistencia a una concentración proteica del 10 %. La capacidad de formación de emulsión y espuma se vieron afectadas por el efecto de la concentración, pH y efecto iónico. El proceso hidrolítico permitió mejorar las propiedades funcionales.

INTRODUCCIÓN

La alimentación, en el mundo actual, plantea problemas tanto cuantitativos como cualitativos. En lo que concierne al aspecto cuantitativo, la problemática del hambre en el mundo, es una preocupación general, a causa de un sin número de factores como el aumento de la población, que no estén en armonía con el crecimiento de alimentos calóricos proteicos (Cheftel *et al.*, 1989).

La proteína 40 % y la grasa 20 % de la soya, desempeñan una importante función al evitar una disminución de proteínas y energía en la nutrición del hombre, siendo estas consideradas tan buenas como la que se obtienen de los huevos o de la carne (FAO, 1997).

Una forma para contrarrestar el problema de la deficiencia de aminoácidos esenciales, es identificar alimentos (leguminosas) con proteína de alto valor biológico, como la soya (Ayala, 2005).

La soya es una fuente rica en proteínas que se emplea en la dieta como ingrediente o como producto principal, ya que aporta un excelente valor nutritivo y por sus distintas propiedades funcionales en los sistemas alimentarios (Jiménez, 2006).

Los productos de soya ofrecen muchos beneficios para la salud. De acuerdo con la Administración de Drogas y Alimentos de Estados Unidos, los alimentos que contienen proteínas de soya pueden reducir el riesgo de enfermedades cardiovasculares (arterias coronarias), cuando se usan en combinación con una dieta baja en grasas saturadas y colesterol. Por lo tanto, es necesario inducir el consumo de soya o sus derivados como aislados e hidrolizados, debido a que, de esta forma permiten asimilar la alta concentración de proteína.

Muchas de las propiedades funcionales influyen sobre el carácter sensorial del alimento (textura), pero juegan un papel decisivo en el comportamiento físico de los alimentos o de los ingredientes alimenticios durante su preparación, transformación o almacenamiento (Cheftel *et al.*, 1989).

El uso de la proteína, como un ingrediente funcional, contribuye significativamente al uso general de la soya para propósitos alimenticios y de salud. Con el crecimiento de la demanda de alimentos, particularmente los alimentos llamados de conveniencia con mejor funcionalidad y un precio más razonable, el uso de la proteína de soya aumentará en el futuro. (Cherry, 1981).

1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1.1. PROPIEDADES GENERALES DE LAS PROTEÍNAS

1.1.1. PROTEÍNAS

Las proteínas son conocidas como las macromoléculas más abundantes en las células, constituyen el 50 % de su peso seco, desempeñan un mayor número de funciones, de todos los seres vivos. Las proteínas tienen una estructura y conformación, que les permite desarrollar diferentes funciones en una célula viva (Byong, 2000).

Las proteínas están compuestas básicamente por carbono, hidrógeno, nitrógeno y oxígeno. Gran parte de ellas tiene azufre y algunas contienen compuestos adicionales, como por ejemplo las proteínas lácteas contienen fósforo, la hemoglobina y la mioglobina contienen hierro. Estos elementos químicos se agrupan para formar unidades estructurales llamadas aminoácidos, a los cuales se podrían considerar como los “ladrillos de los edificios moleculares proteicos”. Las proteínas son muy importantes en los alimentos, por sus diferentes propiedades nutricionales y funcionales (Vaclavik, 2002).

Las proteínas tienen carácter anfótero; es decir, se comportan como ácidos débiles frente a las bases y como bases débiles frente a los ácidos. El grupo amino es aceptor de protones y el grupo carboxilo dador de protones (Byong, 2000)

1.1.1.1. Aminoácidos

Estos compuestos, como su nombre lo indica, son moléculas orgánicas, que contienen en su estructura un grupo amino (-NH₂) y un grupo carboxilo (-COOH), un átomo de hidrógeno y una cadena lateral, “R”, enlazado al átomo de carbono denominado carbono α . Los aminoácidos de mayor importancia son 20, que se

encuentran como sillares de las proteínas, otros aminoácidos presentes biológicamente desempeñan otras funciones en las células (Lehninger, 1981).

En las proteínas, los aminoácidos se combinan mediante enlaces peptídicos, (-CO-NH-), en una reacción de condensación, que libera agua. En estos aminoácidos, el grupo amino primario ocupa la posición α , con respecto al grupo carboxílico, como se observa en la Figura 1 (Cheftel *et al.*, 1989).

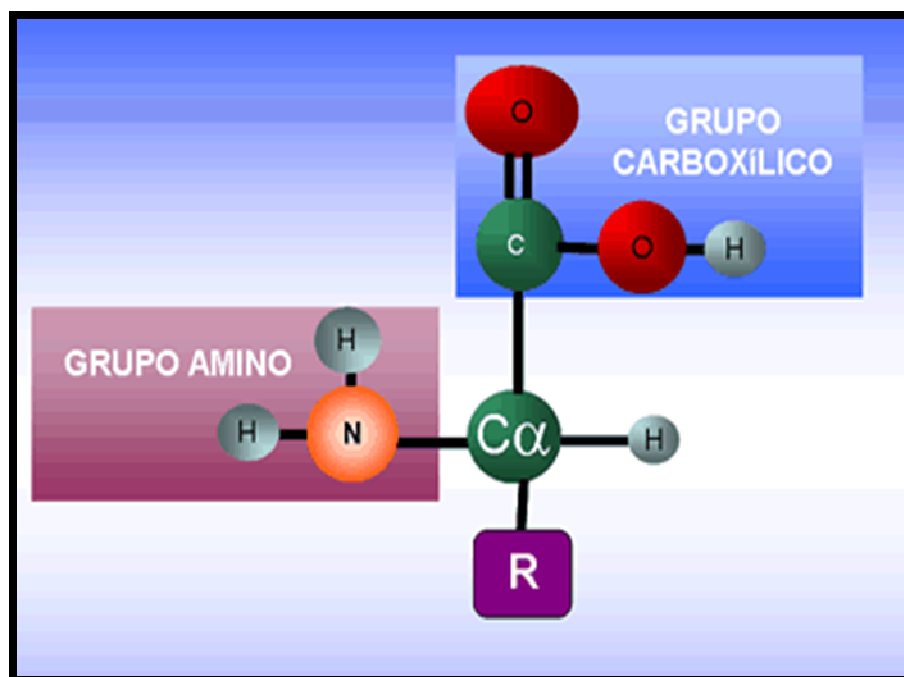


Figura1. Estructura general de los aminoácidos

El enlace peptídico permite unir aminoácidos para formar péptidos o proteínas. Los péptidos están formados por 2 a 100 aminoácidos. Si el número de aminoácidos es menor a 10, se denomina oligopéptido, cuando es mayor a 10 aminoácidos se denomina polipéptido. La unión de más de 100 aminoácidos da lugar a la formación de proteínas (Torún, 1985).

1.1.1.2. Clasificación de los aminoácidos

La clasificación de los aminoácidos según la polaridad de su cadena lateral R, permite ubicar a los aminoácidos en cuatro grupos (Lehninger, 1981).

Aminoácidos con grupos R no polares o hidrofóbicos

A este grupo pertenecen los aminoácidos con cadena lateral alifática (la alanina, la leucina, la isoleucina, la valina y la prolina), con anillos aromáticos (la fenilalanina y el triptófano), y el que contiene azufre (la metionina). Son menos solubles en el agua que los aminoácidos polares (Cheftel *et al.*, 1989).

Aminoácidos con grupos R polares sin carga

Esta familia de aminoácidos tiene grupos funcionales neutros y polares, que pueden establecer enlaces de hidrógeno con el agua. La polaridad de la serina, treonina y tirosina se debe al grupo hidroxilo (-OH); la de la asparagina y glutamina, al grupo amida (-CO-NH₂) y la de la cisteína, al grupo tiol (-SH) (Boyer, 2000).

Aminoácidos con grupos R cargados positivamente (básicos)

Los aminoácidos básicos son aquellos que su grupo R presenta carga positiva a pH 7.0. Todos tienen 6 átomos de carbono, están constituidos por la lisina, arginina y la histidina (Herrera, 1986).

Aminoácidos con grupos R cargados negativamente (ácidos)

A este grupo pertenecen los ácidos aspártico y glutámico, cada uno posee un segundo grupo carboxilo (COOH), ionizado negativamente a pH 6.0 a 7.0, que les confieren sus propiedades ácidas. Son solubles en agua (Lehninger, 1981).

1.1.1.3. Propiedades ácido básicas de los aminoácidos

- Los aminoácidos son compuestos sólidos, incoloros, cristalizables, con puntos de fusión elevados (por encima de los 200 °C).

- Son solubles en agua e insolubles en solventes orgánicos como acetona, cloroformo y éter.
- El punto isoeléctrico (pI) es el pH en el cual la carga neta es cero.
- La mayoría de los aminoácidos presentan un carbono asimétrico, a excepción de la glicina, por lo cual tienen isómeros. Los cuales se denominan D y L. La configuración D o L depende de la posición del grupo amino.
- Los aminoácidos pueden comportarse como ácido o base y se denominan sustancias anfóteras (Lehninger, 1981).

1.1.1.4. Reacciones químicas

En los aminoácidos existe tres principales reacciones orgánicas características de sus grupos carboxilo, amino y cadenas laterales.

El conocimiento de estas reacciones es indispensable en varios aspectos importantes de la química de proteínas: 1) la identificación y análisis de aminoácidos en los hidrolizados de proteína, 2) la identificación de la secuencia aminoacídica en las moléculas de proteínas, 3) la identificación de los restos aminoacídicos específicos de las proteínas nativas que se precisan para su función biológica y 4) la síntesis química de los polipéptidos (Byong, 2000).

Reacciones de los grupos carboxilo

Los grupos carboxilos pueden experimentar reacciones orgánicas que llevan a la formación de amidas, ésteres y ácidos haloideos. Una reacción del grupo carboxilo, es la reducción en un medio anhidro, en presencia de potentes reductores como el borohidruro de litio y sodio (LiBH_4 , NaBH_4), para obtener alcoholes primarios, como se observa en la Figura 2 (Halkerston, 1988).

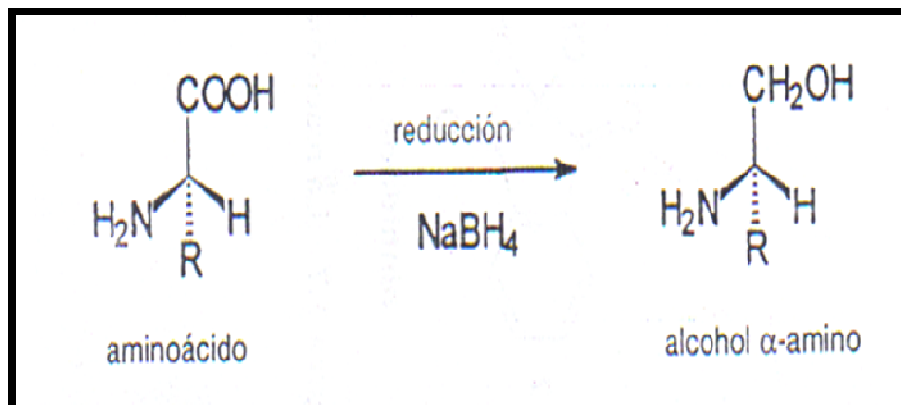


Figura 2. Reacción del grupo carboxilo de un aminoácido
(Byong, 2000)

Reacciones de los grupos amino

Las reacciones de los grupos amino puede darse por tratamiento con haluros o anhídridos de ácido. La reacción de la ninhidrina es utilizada para valorar los aminoácidos tras el calentamiento de una proteína en presencia de ácido clorhídrico. En esta reacción, un α aminoácido reacciona con dos moléculas de ninhidrina, para producir un color púrpura, como se observa en la Figura 3. Los grupos α amino de los aminoácidos reaccionan reversiblemente con los aldehídos y así forman los compuestos llamados bases de Schiff. Las bases de Schiff intervienen en ciertas reacciones enzimáticas como intermediarios, que permiten registrar la interacción de la enzima con los grupos amino o carboxilo del sustrato (Byong, 2000).

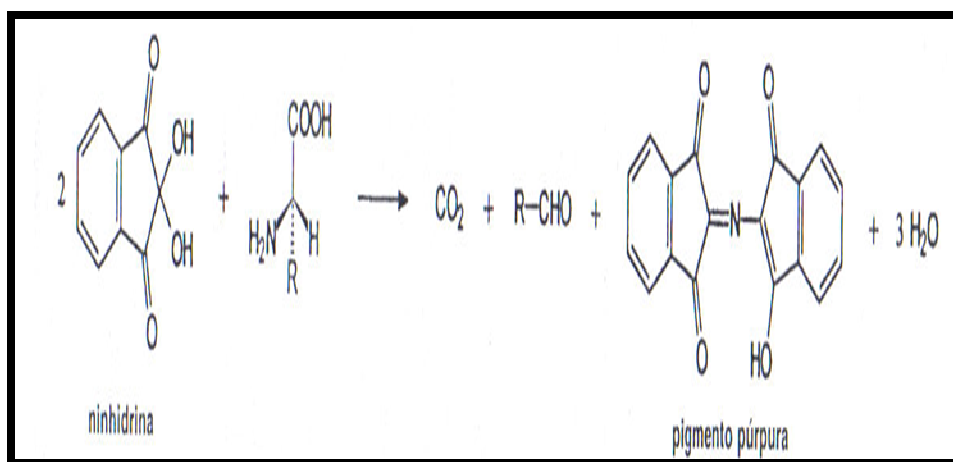


Figura 3. La reacción de la ninhidrina con el grupo amino de un aminoácido
(Byong, 2000)

Reacciones de los grupos R

Los grupos R de los aminoácidos presentan reacciones coloreadas cualitativas, como son el grupo tiol de la cisteína, el grupo hidróxilo fenólico de la tirosina y el grupo guanidinio de la arginina. El grupo tiol o sulfhidrilo de la cisteína es altamente reactivo y extremadamente susceptible a la oxidación a disulfuro, por la acción del oxígeno, en presencia de sales de hierro u otros oxidantes suaves. El resultado de la oxidación es la cistina, en la que el enlace disulfuro forma un puente covalente entre dos restos de cisteína, como se observa en la Figura 4 (Lehninger, 1981).

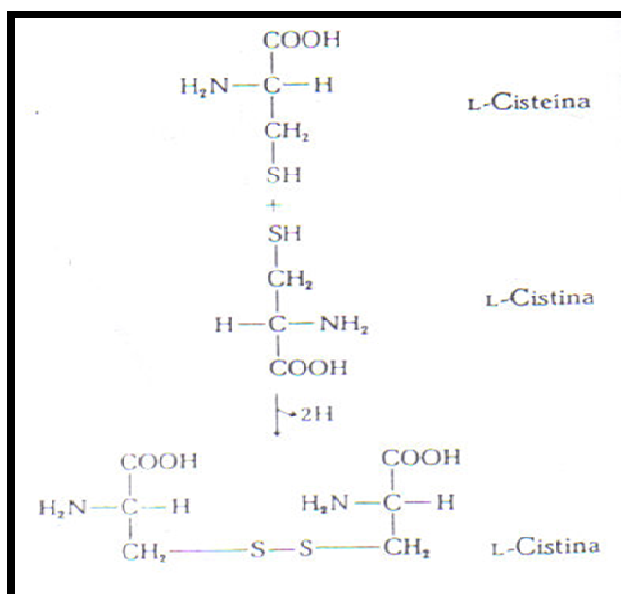


Figura 4. Oxidación de cisteína a cistina
(Lehninger, 1981)

1.1.2. CLASIFICACIÓN DE LAS PROTEÍNAS

La gran diversidad de proteínas y sus diferentes características son las principales causas para que su clasificación sea extensa. Los criterios más usuales están basados en la composición, la forma, solubilidad, función biológica o estructura tridimensional de las proteínas (Murray *et al.*, 1997).

La Tabla 1, presenta de forma más detallada las diferentes clasificaciones que pueden tener las proteínas (Murray *et al.*, 1997).

Tabla 1. Clasificación general de las proteínas

Clasificación	Propiedades	Ejemplo
A. Por su composición		
1) Simple	Contiene solo aminoácidos	Insulina
2) Conjugada	Contiene una fracción no proteica	
a. Metaloproteínas	Pigmentos	Mioglobina, hemoglobina
b. Glucoproteína	Contiene carbohidratos	Inmunoglobulinas, fracción 7S de la soya, caseína k, mucina
c. Fosfoproteína	Contiene fósforo	Caseínas de la leche, flavoproteínas, pepsina
d. Lipoproteínas	Contiene lípidos	Lipovitulina de la yema del huevo
e. Nucleoproteínas	Contiene ácidos nucleicos	Virus, genes
B. Por su forma		
1) Globular	Esféricas u ovoides	Albúmina de huevo
2) Fibrosa	Forman fibras de tejido conectivo	Colágeno
	Proteína de ligamentos y tendones	Elastina
	Pelo, lana, uñas, cuernos	Queratina
	Proteína muscular	Miosina y Actina
	Responsable de la coagulación de la sangre	Fibrinógeno
C. Por su solubilidad		
1) Albúmina	Solubles en agua y soluciones salinas.	α -Lactalbúmina de la leche, ovoalbúmina del huevo
2) Globulinas	Poco solubles en agua, solubles en sal. Salinas	Miosina del músculo, globulina del plasma
3) Histonas	Alto contenido de aminoácidos básicos No coagulan por el calor	Proteínas unidas a ácidos nucleicos
4) Gluteninas	Insolubles en agua y alcohol. Solubles en álcalis y ácidos débiles	Gluten del trigo
5) Prolaminas	Solubles en 70% de alcohol	Zeína del maíz, gliadina del trigo
6) Escleroproteínas	Insolubles en la mayoría de los solventes	Todas las proteínas clasificadas en B-2 en esta tabla
D. Por su función		
1) Estructural	Forma parte estructural del cuerpo	Proteínas clasificadas como B2
2) Enzimas	Catalizan reacciones	Lipasas, proteasas
3) Hormonas	Mensajeros químicos	Insulina, glucagón
4) Toxinas	Proteínas dañinas, generadas por microorganismos	Toxina botulínica
5) Anticuerpos	Proteínas protectoras elaboradas por el organismo	α -globulina de la sangre
6) Transporte de O ₂	Transporta O ₂ de los pulmones a los tejidos	Hemoglobina
	Almacén de O ₂ en el músculo	Mioglobina

Fuente: Anglemeir y Montgomery, 1982

1.1.3. ESTRUCTURA Y CONFORMACIÓN PROTEICA

La estructura de las proteínas es muy compleja y única, está determinada por la conformación de los aminoácidos y la secuencia en la que se encuentran en la cadena. Para entender las funciones de las proteínas en los alimentos, particularmente a nivel molecular y los cambios que generan en las proteínas durante el procesado, es importante conocer las bases de la estructura proteica (Vaclavik, 2002).

1.1.3.1. Estructura primaria

La estructura primaria de las proteínas está conformada por la secuencia específica de aminoácidos, unidos por enlaces peptídicos. Las cadenas polipeptídicas presentan polaridad, debido a que en sus extremos hay un grupo α - amino y un grupo α - carboxilo. Para escribir la secuencia de aminoácidos se empieza desde el extremo amino terminal, debido a que, se considera que es el comienzo de la cadena polipeptídica (Berg *et al.*, 2004).

La secuencia específica de aminoácidos mediante enlaces covalentes permite identificarlos y diferenciar sus diferentes propiedades y funciones de una proteína (Braverman, 1980).

1.1.3.2. Estructura secundaria

Se refiere a la organización tridimensional de los segmentos de una cadena polipeptídica, esta estructura mantiene enlaces no covalentes. La disposición espacial que adquiere la cadena polipeptídica depende de la orientación de los átomos $-C-N-C\alpha-$ que se presentan de manera repetitiva y constituyen “el esqueleto” de las proteínas. Termodinámicamente se refiere a un sistema organizado y estable con un mínimo de energía libre ΔG (Blanco, 2007).

Los ángulos y longitudes de los enlaces indican las características más importantes del enlace peptídico y del esqueleto:

- a) En el enlace peptídico sus cuatro átomos y los dos átomos de carbono α adheridos se encuentran en un mismo plano espacial y los grupos H y R de los carbonos α se dirigen hacia fuera del plano.
- b) Se presenta un alineamiento trans de los dipolos, debido a que los enlaces C=O y N-H están en direcciones opuestas respecto al eje de enlace C-N.
- c) Debido a la orientación espacial y dada la configuración L de cada residuo, los grupos R de cada uno de los átomos de carbono α se encuentran de una manera trans repetitiva (Bohinski, 1991).

Las principales estructuras secundarias de las proteínas son las hélices α , las hojas plegadas β y otras estructuras presentes como, en la propina y el colágeno.

Hélice α : es una de las estructuras secundarias más frecuentes presentes en las proteínas. Una vuelta completa de la hélice cubre una distancia aproximadamente de 0.54 nm a lo largo del eje y requiere 3.6 restos aminoacídicos. Las cadenas laterales de los aminoácidos se encuentran en el exterior de la hélice. Su disposición es muy estable, debido a dos razones, primero porque no existe un amontonamiento de átomos, más entre los grupos R laterales de los aminoácidos; segundo por los dipolos C=O y N=H, que presentan una interacción dipolo-dipolo máxima, lo que genera una trama de puentes hidrógeno no cooperativos intracatenarios (Bohinski, 1991).

Estructura β : la estructura más conocida es la hoja plegada, en la que intervienen todos los enlaces peptídicos componentes en los enlaces con hidrógeno. Cada residuo de aminoácido cubre un espacio de 0.35 nm. En la estructura β , la cadena de polipéptidos se encuentra extendida, los puentes hidrógenos se pueden formar entre varias cadenas o dentro de una misma cadena. Las láminas β pueden ser paralelas cuando tienen la misma dirección (las dos son N – C o C – N) o láminas β antiparalelas, cuando van en dirección alternada. La estructura antiparalela es la más frecuente en las proteínas (Boyer, 2000).

Helicoidal al azar: se refiere a una estructura secundaria desordenada o mal definida. Esta estructura se presenta cuando las cadenas laterales de los aminoácidos no permiten la formación de la hélice α o la hoja β . Por lo general sucede con la prolina o en regiones muy cargadas dentro de la proteína. En una estructura secundaria se pueden encontrar los tres tipos de estructura en diferentes zonas a lo largo de la cadena, la cantidad de cada tipo de estructura secundaria va a depender de la secuencia de aminoácidos (Vaclavik, 2002).

1.1.3.3. Estructura terciaria

La arquitectura total de la molécula proteínica determina la estructura terciaria, que se refiere a la organización tridimensional de una proteína completa. La disposición tridimensional se mantiene gracias a uniones e interacciones de las cadenas laterales de residuos aminoacídicos de los polipéptidos, como son: las uniones salinas, enlaces de hidrógeno, puentes disulfuro, fuerzas de Van der Waals e interacciones hidrofóbicas (Teijón, 2006).

Los enlaces responsables del mantenimiento de la estructura terciaria son:

Enlace covalente: consiste en una compartición de electrones, que generan un enlace fuerte, que permite brindar una gran estabilidad a la cadena proteica. El puente disulfuro, es uno de los enlaces más importantes, que se forma entre residuos de cisteína (Teijón, 2006).

Enlace iónico: se refiere a un puente salino. Se puede presentar por dos grupos polares de la cadena de aminoácidos, que según el pH tendrán carga eléctrica positiva o negativa. Al formarse iones de carga opuesta estos se atraen por fuerzas eléctricas intensas, quedan fuertemente unidos y dan lugar a un compuesto iónico (Lehninger, 1981).

Enlace de hidrógeno: las cadenas laterales de los aminoácidos que poseen hidrógeno fijo en oxígeno o nitrógeno, como sucede en los grupos alcohólicos de

serina y treonina, pueden formar enlaces de hidrógeno con átomos ricos en electrones. La formación de enlaces hidrógeno generan estabilización de las moléculas y entre grupos polares sobre la superficie de las proteínas y el solvente acuoso aumentan la solubilidad de las proteínas (Harvey *et al.*, 2006).

Enlace por fuerzas de Van der Waals: se forman entre las cadenas laterales que contienen radicales, son sumamente débiles y actúan en distancias extremadamente cortas, poseen componentes de atracción y repulsión. Las fuerzas de atracción son las que interaccionan entre dipolos inducidos formados por las oscilaciones instantáneas en la distribución de electrones en los átomos cercanos. En cambio, las fuerzas repulsivas se presentan, cuando 2 átomos se aproximan demasiado y sus orbitales electrónicos se superponen (Harvey *et al.*, 2006).

Presencia de cadenas hidrofóbicas: Son interacciones que implican a las cadenas laterales no polares de los aminoácidos como leucina, valina, isoleucina, metionina, fenilalanina, triptófano, etc., dentro de soluciones acuosas. En consecuencia, a lo largo de la o de las cadenas polipeptídicas donde se encuentran estos grupos existe la tendencia de segregarse del contacto con el solvente acuoso y a formar estructuras con características similares (Peña, 2004).

1.1.3.4. Estructura cuaternaria

El nivel cuaternario consiste en una asociación de dos o más cadenas polipeptídicas unidas solamente por fuerzas de atracción no covalentes entre los grupos R de la superficie de las cadenas. No existe formación de enlaces covalentes, como los puentes -S – S-, entre las diferentes cadenas. Las proteínas que pertenecen a este grupo se conocen como oligómeros (dímeros, trímeros, tetrámeros, etc.) y las cadenas individuales se llaman subunidades. Cuando las cadenas subunitarias son idénticas, la proteína es un oligómero homogéneo, si son diferentes, son oligómeros heterogéneos. Las interacciones que se presentan entre las subunidades pueden tener diferentes geometrías, lo que condiciona la

simetría de la estructura cuaternaria de las proteínas (Bohinski, 1991). En la Figura 5, se observa los 4 niveles de organización de las proteínas.

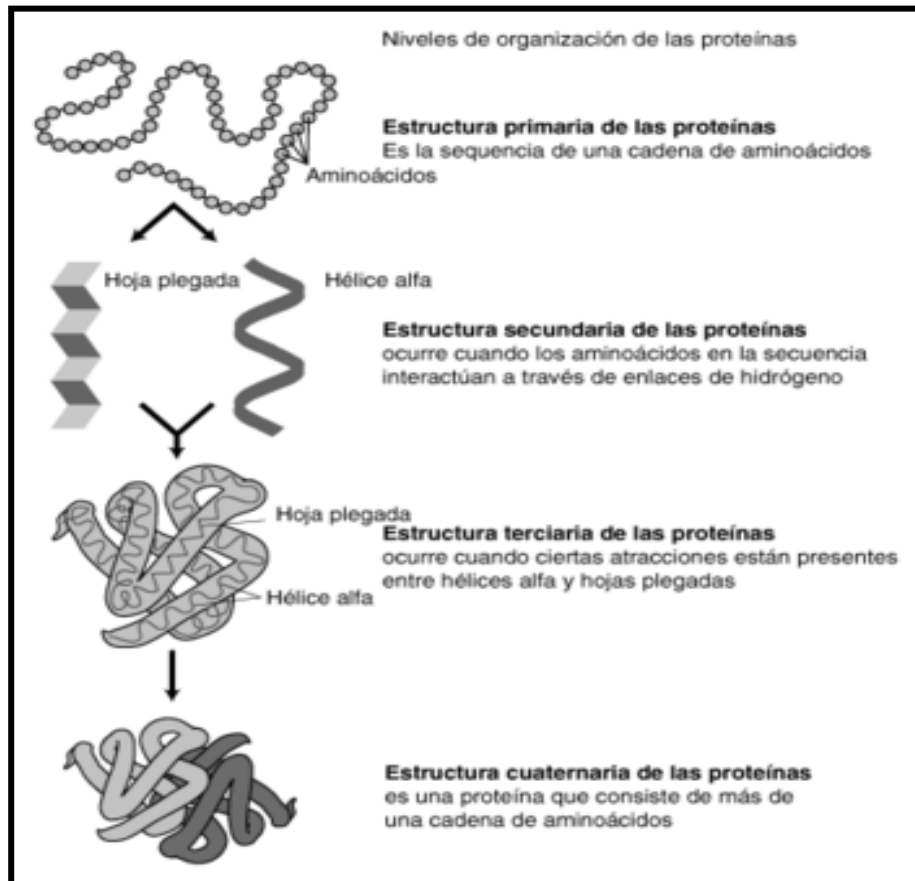


Figura 5. Niveles de organización de las proteínas
(Instituto Nacional de las Investigaciones del Genoma Humano, 2008)

1.1.4. PROPIEDADES DE LAS PROTEÍNAS

Las propiedades de las proteínas son similares a las de los aminoácidos, debido a que son sus principales constituyentes.

1.1.4.1. Punto isoeléctrico

Es el pH en el cual la proteína es eléctricamente neutra, también se conoce como PI. En este pH, la carga total de la proteína es cero, lo que no quiere decir que la proteína no tenga grupos cargados. Significa que el número de cargas positivas es igual al número de cargas negativas. En el punto isoeléctrico, las moléculas de

proteína normalmente precipitan porque no tienen carga neta. El pH del punto isoeléctrico, es distinto para cada tipo de proteína, depende de la relación de los grupos carboxilos libres y los grupos aminos ionizados libres presentes en la proteína (Vaclavik, 2002).

1.1.4.2. Migración electroforética de las proteínas

Se conoce también como electroforesis y consiste en el desplazamiento de especies cargadas bajo la influencia de un campo eléctrico. Las proteínas pueden adquirir carga eléctrica neta, positiva o negativa y de acuerdo con su punto isoeléctrico y el pH del medio, es posible separar las mezclas de proteínas mediante la electroforesis (Peña, 2004).

1.1.4.3. Interacciones proteína – agua

La presencia de enlaces peptídicos (dipolo – dipolo, enlaces hidrógeno) o por las cadenas laterales de los aminoácidos (interacción con los grupos ionizados, polares y no polares), permite que las proteínas reaccionen entre sí con el agua (Cheftel *et al.*, 1989).

1.1.4.4. Interacciones proteína – proteína

Estas interacciones suelen darse en alimentos con un alto contenido de proteína. Algunos ejemplos de las interacciones de proteína son, las micelas de leche, la proteína de soya, la formación de complejo enzima – sustrato, la contracción muscular, etc. Las interacciones que se hallan emparejados son los puentes de hidrógeno y enlaces salinos, es decir las dos superficies son complementarias entre ellas (Fersht, 1980).

1.1.4.5. Interacciones proteína – lípido

Este tipo de interacciones se presenta frecuentemente entre proteínas y fosfolípidos. Se originan en numerosos sistemas alimenticios (emulsiones) y

biológicos (lipoproteínas plasmáticas, membranas), principalmente a nivel de membranas celulares e intracelulares. La interacción entre las cadenas alifáticas apolares del lípido y las regiones apolares de las proteínas impide la desnaturalización térmica de la proteína, debido a la formación de zonas de alta capacidad calorífica y a la ausencia de agua (Cheftel *et al.*, 1989).

1.1.4.6. Hidrofobicidad

Las interacciones hidrofóbicas son las fuerzas no covalentes más importantes, responsables de diferentes fenómenos como la estabilización de la estructura de las proteínas, la unión de las enzimas con los sustratos y el plegamiento de las proteínas. La determinación de la hidrofobicidad media de una proteína, a partir de su composición aminoacídica permite verificar el amargor de los hidrolizados o la posición interna o externa, de una proteína de membrana en las membranas fosfolipídicas. Para la estimación del amargor en los hidrolizados se puede utilizar la siguiente fórmula:

$$\text{Hidrofobicidad media} = \bar{G}^{\circ} = \frac{\sum_{l.a.n} \Delta G^{\circ} \text{cadena.lateral}}{n}$$

[1]

Donde:

n = número de residuos de aminoácidos

G° = energía libre de transferencia de un aminoácido

Por lo tanto es probable que, si G° es superior a 5.85 kJ por residuo, el hidrolizado será amargo y si G° es inferior a 5.43 kJ por residuo, el hidrolizado no será amargo (Cheftel *et al.*, 1989).

1.1.4.7. Desnaturalización

Una proteína nativa es aquella que posee todas sus propiedades biológicas características sin ninguna modificación, mientras que aquella que ha perdido sus

propiedades se conoce como proteína desnaturizada. La desnaturización puede ser reversible o irreversible. Un ejemplo de desnaturización irreversible, es la cocción de un huevo, la clara de huevo se coagula irreversiblemente. En cambio en la desnaturización reversible se logra utilizar como reactivos la urea y el mercaptoetanol (Campbell, 2006).

Entre los efectos de la desnaturización se puede citar:

- a) El desbloqueo de los grupos hidrófobos, que puede causar el descenso de la solubilidad
- b) La alteración de la capacidad de fijación de agua
- c) La pérdida de actividad biológica
- d) El aumento de la sensibilidad al ataque de las proteasas
- e) El aumento de la viscosidad intrínseca
- f) Su incapacidad a la cristalización (Cheftel *et al.*, 1989).

La desnaturización es un proceso que se puede presentar, como resultado de los siguientes agentes: calor, frío, modificación de pH, fuerza iónica, cambios de la superficie y disolventes orgánicos.

Los cambios que produce la desnaturización son generalmente ligeros, por ejemplo el tratamiento térmico, como la pasteurización o escaldado o pequeños cambios en el pH, son suficientes para alterar la conformación estructural de una proteína (Byong, 2000).

1.1.5. HIDRÓLISIS DE PÉPTIDOS Y PROTEÍNAS

El proceso de hidrólisis de las proteínas implica la rotura de enlaces peptídicos, para dar lugar a cadenas de péptidos más pequeñas. Se puede obtener por digestión ácida, al usar ácidos concentrados. Este procedimiento no es aplicable en el procesamiento de alimentos. La hidrólisis también puede ser catalizada por enzimas proteolíticas (Vaclavik, 2002).

1.1.6. VALOR BIOLÓGICO DE LAS PROTEÍNAS

La gran versatilidad de las proteínas les permite interactuar en los diferentes procesos metabólicos de los organismos. Su función principal es estructural o plástica, no reemplazable por otros principios de la dieta. De todos los aminoácidos, ocho (fenilalanina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, treonina, triptófano y valina) no pueden ser sintetizados por el organismo humano, por lo que se los conoce como esenciales o indispensables. En la Tabla 2, se indica la función biológica de algunas proteínas necesarias para mantener un balance y funcionamiento normal del organismo (Blanco, 2007).

Tabla 2. Las proteínas y su función biológica

Enzimas	Hexoquinasa (levadura, P.M. 96 000) fosforila hexosas.
	Sintetasa de los ácidos grasos (hígado de paloma, P.M. 566 600) síntesis de ácidos grasos.
	Deshidrogenasa glutámica (hígado bovino P.M. 1×10^6); deshidrogenación oxidativa del ácido glutámico.
Proteínas de transporte	Hemoglobina A (humana, P.M. 64 450), transporte de oxígeno en la sangre.
	Ceruloplasmina (humana, P.M. 143 300), transporte de cobre en la sangre.
	Beta lipoproteína (humana P.M. 2.66×10^4); transporte de lípidos en la sangre.
Proteínas Contráctiles	Actina (músculo conejo, P.M. 57 900), proteína que forma los filamentos delgados de la fibra muscular.
	Tropomiosina (<i>Pinna nobilis</i> , P.M. 128 800), proteína que forma los filamentos gruesos de la fibra muscular.
	Paramiosina (<i>Venus mercenaria</i> , P.M. 220 000), proteína que forma los filamentos de la fibra muscular.
Proteínas de acción hormonal	Hormona adreno córtica trófica (carnero, P.M. 20 000), estimula el crecimiento de huesos.
	Hormona luteinizante (humana, P.M. 28 260), estimula la formación del cuerpo amarillo en el folículo.
	Insulina (bovina, P.M. 11 466), regula el metabolismo de la glucosa.
Proteínas Estructurales	Colágena (humana, P.M. 64 450), componente principal del tejido conjuntivo.
	Elastina (bovina, P.M. 6 830), componentes de ligamentos.
Proteínas de reserva	Caseína (bovina, P.M. 121 700), componente de la leche de vaca.
	Lactoglobulina (bovino, P.M. 35 000), componente de la leche de vaca.
	Ovoalbúmina (huevo, P.M. 45 000), componente de la clara de huevo.

Fuente: Peña, 2004

1.2. GENERALIDADES DE LA PROTEÍNA DE SOYA

El componente de mayor abundancia presente en la soya es la proteína, con alrededor del 40 % en materia seca. En la actualidad, ya no solo se utiliza el aceite de soya para el consumo humano, sino la proteína para realizar diferentes alimentos y elevar la cantidad de nutrientes. Solo es necesaria una pequeña porción de soya diaria para el consumo humano y mantener un nivel adecuado de proteína. Por consiguiente, ya que el consumo de soya ha aumentado en el mundo, debido a, su alto contenido de proteína y diversificación en su uso como ingrediente funcional de algunos alimentos, se requiere una sobreproducción para abastecer todos los requerimientos (Liu, 1999).

1.2.1. CLASIFICACIÓN Y NOMENCLATURA

La clasificación y composición de la proteína de soya es bastante compleja. Estos problemas son originados por la complejidad de la proteína de la semilla y los métodos de extracción y aislamiento. Según la función biológica de las plantas las proteínas de semillas son de dos tipos: las proteínas metabólicas y proteínas de almacenamiento. Las proteínas metabólicas incluyen a las enzimas y son responsables de las actividades celulares. Las proteínas de almacenamiento son sintetizadas junto con las reservas de aceite, durante el desarrollo de las semillas de soya contenidas en partículas discretas, llamadas cuerpos proteicos. Se estima que alrededor del 60 – 70 % del total de proteínas de la soya, es proteína de almacenamiento (Liu, 1999).

Según los perfiles de solubilidad, las proteínas de las semillas de leguminosas se dividen en globulinas y albúminas. Las albúminas son solubles en agua mientras que, las globulinas son solubles en soluciones salinas. Las proteínas de la soya pertenecen a la familia de las globulinas, almacenadas en las semillas llamadas leguminas (11S) y vicilinas (7S). En comparación con las vicilinas, las leguminas tienen mayor peso molecular, menos solubilidad en soluciones salinas y alta estabilidad térmica (Pernollet *et al.*, 1983).

1.2.2. CALIDAD NUTRICIONAL DE LA PROTEÍNA DE SOYA

Una de las mayores razones de que la soya es considerada como una gran fuente proteica se debe a que no solo tiene una alta cantidad de proteína, sino a una alta calidad. Por consiguiente, se han usado ampliamente los productos de proteína de soya, como suplementos alimenticios y en otros alimentos enriquecidos, para diversificar su uso (Liu, 1999).

1.2.2.1. Composición aminoacídica

En la Tabla 3, se muestra la composición aminoacídica de la soya en la harina, concentrado y aislado, según los requerimientos necesarios para los infantes establecidos por Food and Nutrition Board (FNB). Sin considerar la biodisponibilidad de los aminoácidos estos datos revelan (1) que la composición de los aminoácidos, en la proteína de soya, reúne todos los requerimientos indispensables para los infantes, según FNB, (2) la proteína de soya tiene todos los aminoácidos esenciales en cantidades suficientes, excepto por los dos aminoácidos sulfurados cisteína y metionina (Liu, 1999).

Tabla 3. Composición de aminoácidos esenciales en la proteína de soya^a

Aminoácido esencial	Harina de soya ^b	Concentrado de soya ^c	Aislado de soya ^d	FNB sugerido para infantes
Histidina	26	26	28	17
Isoleucina	51	48	49	42
Leucina	77	79	82	70
Lisina	69	64	64	51
Cistina + Metionina	32	28	26	26
Fenilalanina + Tirosina	89	89	92	73
Treonina	43	45	38	35
Triptófano	13	16	14	11
Valina	54	50	50	48

^a Expresado en mg de aminoácidos por g de proteína;

^b Fuente Liener, 1982

^c FNB Food and Nutrition Board of National Academy of Sciences

^d Fuente: Kolar *et al.*, 1985

1.2.2.2. Digestibilidad proteica

Además de la composición de los aminoácidos, el valor nutritivo de las semillas depende de la biodisponibilidad de los aminoácidos y de la digestibilidad de la proteína. Los factores intrínsecos como los niveles de factores anti nutricionales, la estructura de la proteína y los factores externos, como los tratamientos de calor y los procesos de purificación, afectan a la digestibilidad de la proteína. El porcentaje de digestibilidad de proteína de algunos productos de soya se indica, en la Tabla 4.

Tabla 4. Digestibilidad de productos de proteína de soya

Productos de soya	Digestibilidad (%)
Soya cocida a vapor	65.3
Soya tostada	65.3
Tofú de soya	92.7
Leche de soya	92.6
Harina de soya entera	75.0 – 92.0
Harina de soya desengrasada	84.0 – 90.0
Aislado de proteína de soya	93.0 – 97.0

Fuente: Watanabe *et al.*, 1971

El tratamiento térmico, generalmente, mejora la digestibilidad de la proteína, debido a la disminución de inhibidores de tripsina y otros factores antinutricionales. La digestibilidad de la proteína es mayor en aislados proteicos que se utilizan, en diferentes alimentos, como ingrediente nutricional (Liu, 1999).

Además, los enlaces disulfuro juegan un papel muy importante porque ayudan a mantener la estructura y estabilidad nativa de la proteína. La disminución de enlaces disulfuro pueden incrementar la susceptibilidad a las reacciones proteolíticas causadas por las enzimas (Kinsella, 1985).

1.2.3. LA PROTEÍNA DE SOYA COMO INGREDIENTE FUNCIONAL

El uso de la proteína, como ingrediente funcional, depende principalmente de las propiedades físico químicas que gobiernan la estructura y conformación de las

proteínas. Por lo tanto, es necesario entender la estructura natural de las proteínas y los factores que influyen en las propiedades físico – químicas de las proteínas en un sistema de alimentos (Liu, 1999).

Las fuerzas no covalentes (electrostáticas, puentes de hidrógeno e interacciones hidrofóbicas), de aminoácidos de cadena lateral junto con los puentes disulfuros que en grupos tiol de residuos de cisteína son los responsables de la conformación de la proteína. Cualquier otro factor, que rompa estas interacciones entre las moléculas de proteína y la conformación estructural, podría producir cambios en las propiedades físico – químicas y funcionales de la proteína (Liu, 1999).

1.3. PRODUCTOS DE SOYA EN ALIMENTOS

1.3.1. HARINA DE SOYA

La harina de soya se fabrica mediante la molienda de las semillas de soya, hasta obtener un polvo fino. Se puede comercializar en tres presentaciones: 1) natural o con toda la grasa (contiene aceites naturales), 2) desengrasada (sin aceites), con un 50 % de contenido proteico y alta solubilidad en agua, y 3) lecitinada (se añade lecitina). La harina es la materia prima de todos los elaborados proteicos (Pernollet *et al.*, 1983).

1.3.2. PRODUCTOS TEXTURIZADOS DE PROTEÍNA DE SOYA

La harina de soya y los concentrados pueden ser procesados por extracción termoplástica e impartir textura agradable para distintos productos. La harina y los concentrados son mezclados con agua y aditivos para formar una masa, expuestos a altas temperaturas y presiones para obtener texturas fibrosas.

Similarmente, los aislados de proteína de soya pueden ser texturizados por un proceso que involucra la solubilización alcalina y seguida por una precipitación

ácida para coagular la proteína. Las fibras formadas se estiran y se agrupan y son utilizadas para formar alimentos análogos de la carne (Pernollet *et al.*, 1983).

1.3.3. AISLADOS DE PROTEÍNA DE SOYA

La proteína de soya para el uso en alimentos generalmente se aísla al usar harina de soya desengrasada, con un extracto alcalino (pH 7.0 – 10.0), que permite eliminar los carbohidratos solubles. Los carbohidratos insolubles son separados por centrifugación, seguido por una precipitación ácida de la proteína de soya en el punto isoeléctrico (pH en rango de 4.5). La proteína precipitada es separada por decantación mecánica, lavada y neutralizada a pH cercano a 6.8 y secada mediante spray – dried. El producto final puede lavarse y secarse sin la neutralización para obtener un aislado de proteína de soya en el punto isoeléctrico, como se indica en la Figura 6 (Waggle *et al.*, 1989).

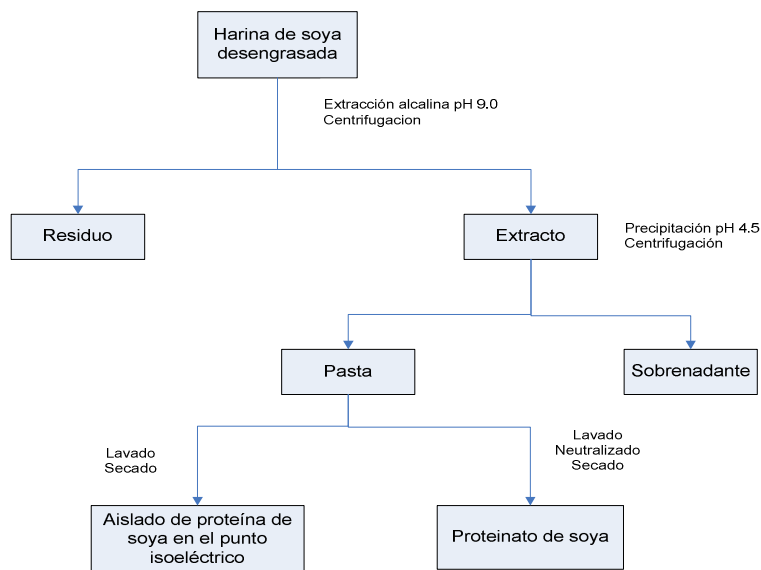


Figura 6. Preparación de aislados de la proteína de soya desde la harina de soya desengrasada. (Waggle, 1989)

La proteína aislada de soya es una forma altamente refinada o pura de proteína con un contenido proteico cercano al 90 % sobre una base libre de humedad. Su elaboración a partir de harina de soya desengrasada permite eliminar la mayor

parte de sus componentes no proteicos como grasas y carbohidratos (Cheftel *et al.*, 1989).

1.3.4. HIDROLIZADOS DE PROTEÍNA DE SOYA

Los hidrolizados de proteína se obtiene mediante la ruptura de los enlaces peptídicos, son utilizados en la industria alimenticia, debido a que mejora sus características originales, como por ejemplo el poder alergénico que poseen algunas de estas.

La hidrólisis enzimática de la proteína de soya, se realiza al tomar en cuenta parámetros como pH (5.0 – 9.0), temperatura (40 – 60 °C), debido a que se obtiene una mayor pureza de los aminoácidos se incrementa la eficiencia del proceso, que dan lugar a productos con características funcionales definidas (Mahmoud *et al.*, 1992).

La modificación enzimática se realiza, generalmente, por hidrólisis proteolítica. La hidrólisis con tripsina, pepsina y bromelina, produce cambios significativos en las propiedades funcionales de la proteína, debido a que, origina péptidos mas pequeños (Liu, 1999).

1.3.5. COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LOS PRODUCTOS DE PROTEÍNA DE SOYA

La harina de soya desengrasada, los concentrados y los aislados son utilizados para elaborar alimentos que requieren altas cantidades de proteína, y porcentajes muy bajos de grasa (0.5 – 1.0 %). Sin embargo su mayor diferencia se encuentra en las cantidades de proteína y carbohidratos. Cuando se obtiene una excelente purificación de proteína en aislados y concentrados de soya, también se obtendrá una considerable disminución en la cantidad de carbohidratos (Kolar *et al.*, 1985).

La harina de soya tiene una composición similar a la de los alimentos desengrasados, con un rango de proteína del (56 – 59 %). En los concentrados

solo los carbohidratos solubles son removidos. Por lo tanto, ellos tienen un nivel medio de proteínas (65 – 72 %) y un alto nivel de fibra cruda similar al de la harina de soya.

En los aislados de proteína los carbohidratos solubles e insolubles son removidos, para obtener un porcentaje elevado de proteína, cercano al 90 %, como se indica en la Tabla 5. Además, todos los productos de proteína de soya contienen cantidades nutricionales altas de calcio, hierro, fósforo y zinc (Kolar *et al.*, 1985).

Tabla 5. Composición química (%) de los productos de proteína de soya

Constituyentes	Harina de soya desengrasada		Concentrados		Aislados	
	BS	BH	BS	BH	BS	BH
Proteína (N*6.25)	52 – 54	56 – 59	62 – 69	65 – 72	86 – 87	90 – 92
Grasa	0.5 – 1.0	0.5 – 1.1	0.5 – 1.0	0.5 – 1.0	0.5 – 1.0	0.5 – 1.0
Fibra cruda	2.5 – 3.5	2.7 – 3.8	3.4 – 4.8	3.5 – 5.0	0.1 – 0.2	0.1 – 0.2
Cenizas	5.0 – 6.0	5.4 – 6.5	3.8 – 6.2	4.0 – 6.5	3.8 – 4.8	4.0 – 5.0
Humedad	6.0 – 8.0	0	4.0 – 6.0	0	4.0 – 6.0	0
Carbohidratos	30 - 32	32 – 34	19 – 21	20 – 22	3.0 – 4.0	3.0 – 4.0

Fuente: Council, 1987

1.3.6. PROPIEDADES FUNCIONALES

Las propiedades funcionales se definen como toda propiedad no nutricional que influye en la utilidad de un ingrediente en un alimento, reflejan atributos intrínsecos de las proteínas tales como, composición, secuencia de aminoácidos, conformación, estructura así como, las posibles interacciones con otros componentes de los alimentos. Determinan las características sensoriales del alimento como puede ser la textura y están relacionadas con sus características físico – químicas y estructurales. Entre las cuales pueden ser el tamaño, la forma, la composición de aminoácidos y su secuencia, el carácter hidrofóbico o hidrofílico (Liu, 1999). Distintos factores intervienen en la determinación de dichas propiedades, como lo indica la Figura 7.

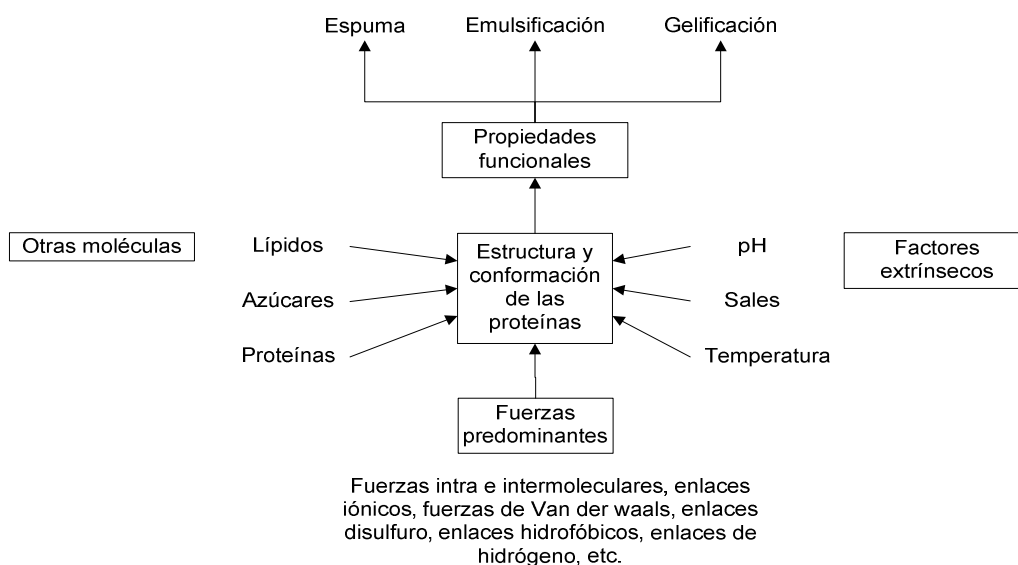


Figura 7. Factores y fuerzas involucradas en la determinación de las propiedades funcionales de las proteínas.
(Kinsella y Whitehead, 1989)

Las características de algunas proteínas, como la rigidez, flexibilidad y la naturaleza y el grado de interacción con otros componentes alimentarios, son factores importantes que proporcionan los atributos funcionales de los alimentos. Las propiedades físicas de las proteínas son responsables de la funcionalidad específica, como se muestra en la Tabla 6 (Damodaran, 1996).

Tabla 6. Propiedades de las proteínas responsables de la funcionalidad en alimentos

Propiedad física	Funcionalidad
Sensoriales	Color, olor, sabor, textura
Hidratación	Absorción de agua, solubilidad, gelificación
Superficie	Emulsión, espuma
Reológica	Viscosidad, elasticidad, adhesividad, gelación, formación de fibra
Otras	Actividad enzimática, antioxidante y otras propiedades

Fuente: Kinsella, 1979

Las propiedades funcionales de las proteínas alimenticias, pueden clasificarse en diferentes grupos: propiedades de hidratación (proteína – agua), propiedades referentes a las interacciones (proteína – proteína), propiedades superficiales (Cheftel *et al.*, 1989).

En el primer grupo, se encuentran las propiedades de absorción y retención de agua, succulencia, hinchado, adhesión, dispersibilidad, solubilidad y viscosidad. En el segundo grupo pertenecen las propiedades de precipitación, gelificación y formación de otras estructuras diferentes (por ejemplo fibras y pastas proteicas). El tercer grupo de propiedades se refiere a la tensión superficial de emulsificación y características espumantes de las proteínas (Damodaran, 1996).

Para determinar las propiedades funcionales es necesario realizar una evaluación experimental, mediante pruebas que incluyen medidas exactas de propiedades físico – químicas bien definidas como viscosidad, tensión superficial y solubilidad a simples ensayos sobre su aplicación (Wijeratne, 2005).

1.3.6.1. Solubilidad

La solubilidad de una proteína es gobernada por factores que influyen en el equilibrio entre las interacciones proteína – proteína y proteína – agua (Damodaran, 1994). Factores intrínsecos, como las cargas hidrofóbicas e hidrofílicas, tamaño y, factores extrínsecos, como pH y fuerza iónica de varias sales e interacciones de otros componentes de los alimentos afectan la solubilidad de las proteínas (Liu, 1999).

Influencia del pH: el pH del medio afecta la solubilidad de las proteínas, debido a sí es igual al punto isoeléctrico de la proteína, pierde su carga eléctrica neta y por lo tanto su solubilidad, y en algunos casos llega a precipitarse (Peña, 2004). Las cadenas proteicas que llevan cargas eléctricas del mismo signo tienden a repelerse, y por lo tanto, a disociarse y desdoblarse. Si la solubilidad se representa en función del pH, por lo general, se obtiene una curva en V o en U, en la que el valor mínimo corresponde al punto isoeléctrico, como se indica en la Figura 8 (Cheftel *et al.*, 1989).

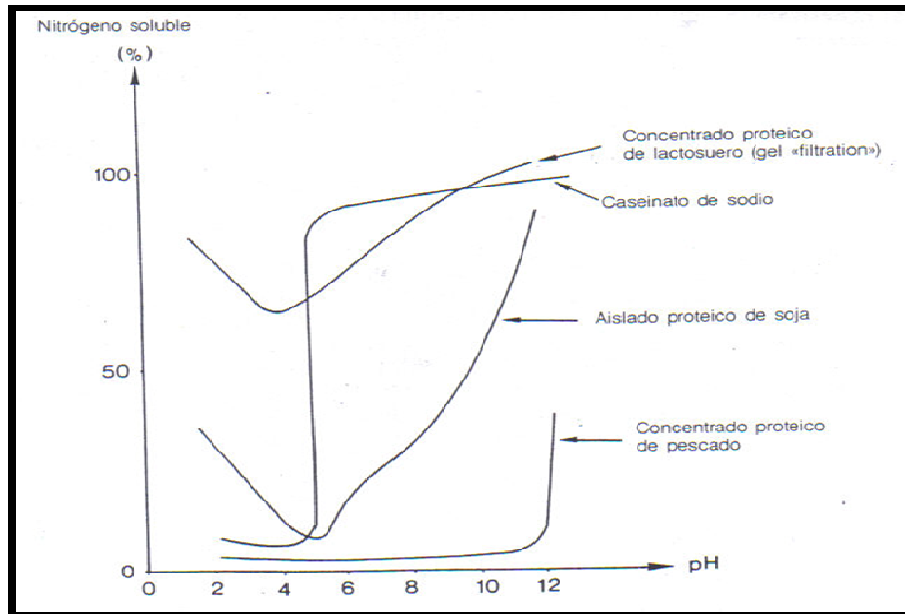


Figura 8. Solubilidad de diversas preparaciones proteicas en NaCl 0.2 M en función del pH.

(Hermansson, 1973)

Influencia de la fuerza iónica: la fuerza iónica se establece por $F = 1/2 \sum Me^2$, donde F es la fuerza iónica, M la molaridad de la solución y e la carga del ión. La solubilidad de las proteínas puede aumentar con los iones de las sales neutras, con molaridades comprendidas entre 0.25 M y 1.0 M (efecto de la sal). Los iones reaccionan con las cargas de las proteínas y disminuyen la atracción electrostática entre las cargas opuestas de los grupos próximos. (Cheftel *et al.*, 1989).

Influencia de los solventes: la presencia de solventes orgánicos, tales como la acetona, el metanol, el etanol, etc., afecta también a la solubilidad de las proteínas, debido que su presencia disminuye la capacidad de los solventes acuosos para separar y solubilizar a los grupos cargados de las proteínas. De esta forma, disminuyen las fuerzas electrostáticas de repulsión existentes entre las moléculas proteicas, lo que permite su agregación y precipitación (Peña, 2004).

Influencia de la temperatura: la solubilidad de las proteínas puede aumentar cuando la temperatura se eleva de 0 a 50 °C. Por encima de estos valores, el movimiento de las moléculas es suficiente para romper los enlaces implicados en

la estabilización de las estructuras secundaria y terciaria. Además se presenta una agregación y la solubilidad de la proteína desnaturalizada llega a ser inferior a la de la proteína natural. (Battaner, 2000).

1.3.6.2. Absorción de agua

El agua es un ingrediente universal en los sistemas de alimentos. La absorción de agua en las proteínas está definida como la humedad relativa de la proteína seca. Cuando el agua es agregada en cantidades excesivas a un alimento, parte del agua interactúa con los sólidos, es decir una parte del agua añadida no aparece como agua libre (Wijeratne, 2005).

Las proteínas de soya poseen numerosas cadenas laterales polares que, junto con las uniones peptídicas, hacen que la proteína sea hidrofílica. Por lo tanto, la proteína de soya cuando está presente en cualquier sistema de alimentos puede retener o absorber agua. En la Figura 9, se indican algunos ejemplos de absorción de agua (Wijeratne, 2005).

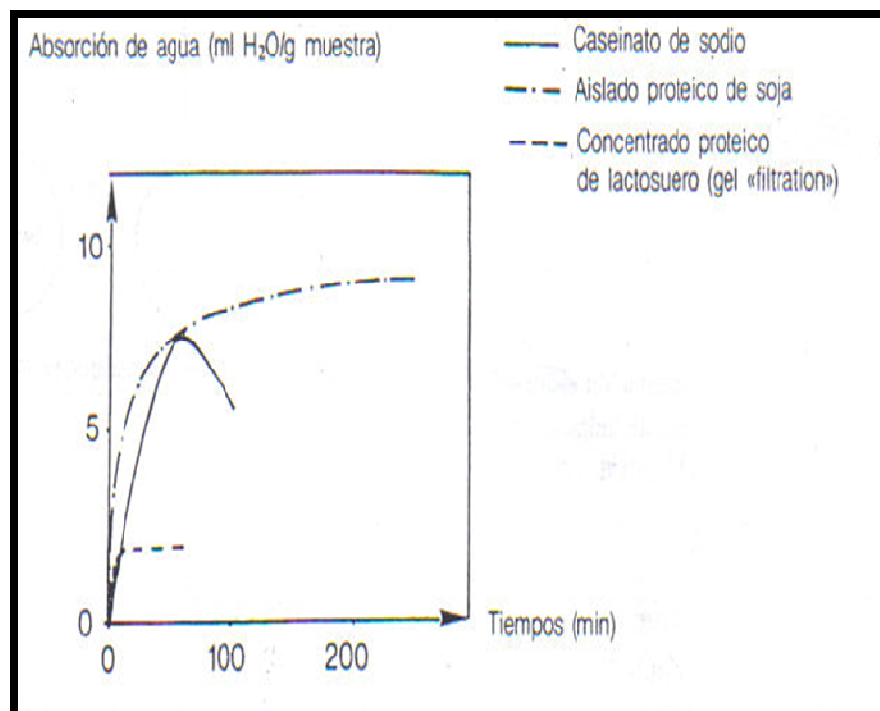


Figura 9. Absorción de agua de diversos polvos proteicos en función del tiempo. (Hermansson, 1973)

Generalmente, se utilizan cuatro métodos para la determinación práctica de la absorción de agua y de la capacidad de retención de agua de los ingredientes proteicos (Cheftel *et al.*, 1989):

Método de humedad relativa: o método de equilibrio de humedad, consiste en medir la cantidad de agua absorbida a una a_w determinada. Este método sirve para valorar la higroscopicidad de un polvo proteico y el peligro de coagulación de la proteína.

Método de hinchado: que utiliza el aparato de Baumann, que consiste en un tubo capilar, graduado y conectado a un filtro de vidrio vitrificado. El polvo proteico se coloca sobre el filtro y suele absorber espontáneamente al agua contenida en el tubo capilar situado debajo del filtro.

Métodos por exceso de agua: consisten en poner las muestras proteicas en un exceso de agua, con relación a la que pueda fijar la proteína, para después filtrar o aplicar una fuerza centrífuga considerable que separe el exceso de agua retenida.

Métodos por saturación de agua: mide la cantidad de agua necesaria para conseguir un estado de saturación de la proteína en agua, la retención máxima de agua se determina por centrifugado.

1.3.6.3. Absorción de aceite

Las interacciones de mayor importancia en esta propiedad son las de proteína – lípido, que implican interacciones entre las cadenas alifáticas apolares del lípido y las regiones apolares de la proteína (Wijeratne, 2005)

La energía de interacción proteína-lípido alcanza su valor máximo alrededor del punto isoeléctrico de la proteína, debido a que las interacciones hidrofóbicas juegan un papel muy importante en este fenómeno. Los triglicéridos y los ésteres metílicos y etílicos de los ácidos grasos funcionan como libres, por lo que se

deduce que los grupos carboxilo y carboxilato no tienen mucha importancia en la interacción (Cheftel *et al.*, 1989).

El método por exceso, es el más utilizado para determinar la capacidad de absorción de aceite, el cual consiste en hacer una suspensión proteína – aceite y luego someterla a una fuerza centrífuga, para seguir con una filtración, para determinar por diferencia de volumen, la cantidad de aceite absorbido por la muestra proteica (Sathe *et al.*, 1982).

1.3.6.4. Gelificación

Los geles de las proteínas consisten en redes tridimensionales o mallas de polipéptidos, parcialmente, entrecruzados, mediante enlaces como de hidrógeno y disulfuro, que atrapan el agua. Para crear un gel, la estructura de la proteína tiene que ser alterada de alguna manera, por ejemplo, con un tratamiento calórico, cambios de pH, acción de enzimas, etc., la formación de una red proteica se considera como un resultado del equilibrio de las interacciones proteína – proteína, interacciones proteína – agua y fuerzas atractivas y repulsivas entre cadenas polipeptídicas próximas (Mangino, 1984).

El balance entre las interacciones proteína - proteína y proteína - agua determinan los mecanismos involucrados en la formación de un gel. Estas interacciones pueden generar mecanismos como la asociación, agregación, floculación; así como, la coagulación. Estos también pueden afectar la conformación de la proteína, la estructura nativa, la estructura hélice y la tridimensional (Hermansson, 1979).

Los geles obtenidos por calentamiento se pueden clasificar en dos grupos:

- a) Las proteínas tales como la ovoalbúmina que precipitan por el calor y a baja concentración proteica generan un gel opaco.

- b) Las proteínas como las gelatinas, permanecen solubles con baja concentración proteica durante el calentamiento y dan un gel claro y termorreversible con una concentración alta.

Los factores básicos que afectan a la gelificación de la proteína de soya son la concentración de la proteína, la duración de calentamiento y las condiciones de enfriamiento. El procedimiento general para producir geles de proteína de soya consiste en llevar la solución de proteína a un calentamiento de 80 – 90 °C por 30 min, seguido por un enfriamiento a 4 °C (Hermanson, 1986).

1.3.6.5. Viscosidad

Las proteínas juegan un papel importante, debido a que controlan la textura de muchos productos alimenticios. En este aspecto, las propiedades funcionales dependen de las propiedades físicas de las proteínas. Estas propiedades son alteradas durante el procesamiento de alimentos; pero, finalmente, dependen de la estructura química de las proteínas. Los estudios de las propiedades reológicas de las proteínas son significantes por las siguientes razones (Mitchell *et al.*, 1986):

- a) Permiten verificar la estructura (forma) e interacciones (hidratación, agregación) de las moléculas en solución.
- b) Permiten reducir las propiedades funcionales a propiedades físicas descritas por unidades fundamentales.
- c) Proporcionan herramientas para procesos monitorizados y controlados.

La viscosidad de un fluido se refleja como su resistencia ante el deslizamiento, se expresa por el coeficiente de viscosidad (μ), que es la relación entre la fuerza de corte o cizallamiento (τ) y la velocidad relativa de corte ($\dot{\gamma}$) (Cheftel *et al.*, 1989)

$$\tau = \mu \dot{\gamma}$$

El diámetro de las moléculas dispersas dependen de las:

- a) *Características intrínsecas* de la molécula proteica, como la masa, tamaño, volumen, estructura, asimetría molecular, cargas eléctricas, facilidad de deformación, pH, fuerza iónica y temperatura.
- b) *Interacciones proteína – disolvente*, que intervienen en la hinchazón, solubilidad y esfera de hidratación hidrodinámica, que rodea la molécula.
- c) *Interacciones proteína – proteína*, que determinan el tamaño de los agregados (Cheftel *et al.*, 1989).

El coeficiente de viscosidad, de la mayor parte de los fluidos proteicos, aumenta exponencialmente con la concentración de la proteína, a causa de las interacciones proteína – proteína.

Las variaciones de pH, temperatura, fuerza iónica y la adición de iones Ca^{2+} , agentes oxidantes o reactivos que pueden romper los enlaces hidrógeno o disulfuro, pueden modificar drásticamente la viscosidad de las soluciones o de las dispersiones proteicas (Cheftel *et al.*, 1989).

1.3.6.6. Propiedades emulsificantes

Una emulsión es un sistema de dos fases formado por dos líquidos inmiscibles, uno disperso en el otro. Para formar una emulsión, el trabajo es aplicado en dos líquidos. Esto podría aumentar el área interfacial entre los dos líquidos. También podría aumentar la energía interfacial desde el estado de energía libre del sistema con el aumento en el área de contacto con los dos líquidos (Mangino, 1984).

La capacidad de emulsión (CE) se refiere a la cantidad máxima de aceite emulsionada, bajo las condiciones específicas, por una cantidad estándar de proteína, hasta que se produzca la inversión de fases. Se relaciona con el área interfacial que puede cubrir la proteína. El procedimiento termina cuando existe un

colapso de la emulsión. Este punto se conoce como el punto de inversión (Waniska *et al.*, 1981).

La *estabilidad de emulsión* (EE) se puede medir después de realizar un calentamiento y centrifugar la emulsión a baja velocidad o después de la decantación, durante varias horas. La rotura de la emulsión puede provocar la separación de una capa acuosa y otra de aceite. La “nata” se produce por lo general cuando las gotitas del aceite remontan para formar una capa densa y compacta (Waniska *et al.*, 1981).

Las emulsiones pueden ser inestables debido a tres factores fundamentales: la formación de crema o sedimentación, la floculación y la coalescencia o fusión de las gotas, que presupone un aumento progresivo de su tamaño y provocan la separación de las dos fases (Cheftel *et al.*, 1989).

Formación de crema: conocida también como sedimentación de las gotitas, se refiere a las fuerzas gravitacionales que actúan en fases que difieren en densidad, que permite la separación de las gotas emulsificadas y que se clasifican según su tamaño y la densidad de cada una de las fases formadas. La siguiente ecuación permite identificar la velocidad de subida o bajada de la gota (Kinsella, 1989):

$$V = \frac{2r^2 g \Delta p}{9 \mu}$$

[3]

Donde:

V = Velocidad de subida o caída de la gotita

r = Radio de la gotita

g = Aceleración de la gravedad

Δp = Diferencia de densidad entre las dos fases líquidas

μ = Coeficiente de viscosidad de la fase continua

Floculación de gotitas: se refiere a la agregación de gotas de la emulsión, por vía de interacciones de las macromoléculas adsorbidas en la superficie de las gotas. La floculación es provocada por la brusca supresión de cargas eléctricas y por tanto las repulsiones electrostáticas entre las gotitas, debido a cambios en el pH y en la fuerza iónica (Tornberg y Ediriweera, 1988).

Coalescencia: se refiere a la acumulación y fusión de las gotitas entre sí, que involucra un rompimiento de la película interfacial y una reducción del área interfacial, un mecanismo que producirá una separación gradual de la emulsión, una en fase de aceite y otra en fase acuosa (Nawar, 1985).

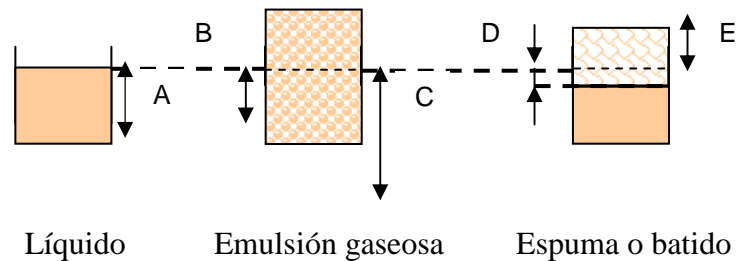
También existen muchos factores que pueden estabilizar las emulsiones (Cheftel *et al.*, 1989):

- a) La presencia de una débil tensión interfacial entre las fases, debido a la naturaleza de las dos fases o por adición de agentes tensoactivos.
- b) La presencia de una capa interfacial resistente, constituida por una película de proteínas adsorbidas, que se opone mecánicamente a la coalescencia de las gotitas.
- c) La presencia de cargas electrostáticas del mismo signo en la superficie de las gotitas dispersas, debido a los fenómenos de ionización o de adsorción de iones.
- d) Un diámetro pequeño de las gotitas y una distribución uniforme de los diámetros, que se puede conseguir con la agitación intensa y una concentración apropiada de un agente tensoactivo específico.
- e) Una fuerte viscosidad de la fase continua que, además, origina una lenta formación de cremas (Kinsella, 1989).

1.3.6.7. Propiedades espumantes

Las espumas o batidos alimenticios son dispersiones de gas en una fase continua líquida o semi – sólida que contienen un surfactante soluble.

Para la formación de espuma, la proteína debe ser soluble en agua y flexible, para formar una película cohesiva de aire – interface agua. Para que las películas puedan ser estables, deben poseer suficiente fuerza mecánica y viscosidad para prevenir una subsecuente ruptura y coalescencia. En la Figura 10, se indican las diferentes etapas para la formación de espumas (Cheftel *et al.*, 1989).



A = Volumen del líquido o solución proteica, B = Volumen de gas incorporado,
C = Volumen total de la dispersión, D = Volumen del líquido en la espuma,
E = Volumen de la espuma.

Figura 10. Etapas de la formación de espuma.
(Cheftel *et al.*, 1989)

La estabilidad de las espumas depende (Linden, 1996):

- De la rigidez de la película interfacial, la adición de polisacáridos permite formar complejos estabilizantes, ésta resulta mejorada en el caso de las espumas proteicas.
- De la viscosidad de la fase líquida, puede mejorar por la adición de polisacáridos, y en el caso de proteínas, por un incremento en la concentración y un pH alejado del punto isoeléctrico.
- La presencia de partículas sólidas que permiten estabilizar la película interfacial

La capacidad espumante puede ser definida como la cantidad de espuma formada por unidad de volumen de solución, se mide después del esponjamiento por determinación del volumen máximo de espuma. No presenta información de la estructura, tamaño y forma de las burbujas (Linden, 1996).

La estabilidad espumante se refiere a la capacidad de la espuma de conservar su estructura primaria a lo largo del tiempo. Se evalúa por medida, ya sea del volumen de espuma, o del líquido separado a lo largo de un tiempo (Linden, 1996).

1.3.7. APLICACIONES DE LOS AISLADOS E HIDROLIZADOS DE PROTEÍNA DE SOYA

Las proteínas vegetales, junto con el almidón y la fibra dietética, son efectivos para bajar el colesterol y los niveles altos de triglicéridos, en los seres humanos. Además, el consumo de alimentos de soya puede prevenir enfermedades como el cáncer, problemas cardíacos, osteoporosis y los síntomas de la menopausia. Investigaciones atribuyen que la mayoría de estos efectos beneficiosos se debe a las isoflavonas, un fitoestrógeno que se encuentra principalmente en la soya (Damodaran, 1994).

Las aplicaciones de los productos de proteína de soya se han encontrado en varios tipos de alimentos procesados. La harina de soya se usa ampliamente en los productos de panadería y cereales. Los concentrados y aislados de soya se usan en distintos productos lácteos y cárnicos. Debido a su alta solubilidad y alto contenido de proteína, los aislados e hidrolizados de soya son, también, usados como aditivos en fórmulas infantiles, y como fuentes de aminoácidos para sustituir proteínas presentes en el huevo y la carne (Liu, 1999).

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. MATERIALES

2.1.1. MATERIA PRIMA

En el presente trabajo se utilizó harina de soya desengrasada, proveniente de la empresa Grasas UNICOL.

- Aislado de proteína de soya obtenido según el acápite 2.3
- Hidrolizado proteico de soya obtenido según el acápite 2.4

2.1.2. EQUIPOS Y REACTIVOS

2.1.2.1. Materiales

- Ácido clorhídrico 1 N, 6 N, Merck
- Ácido tricloroacético (TCA) al 5 %, Sigma
- Balones de vidrio Kimax de 25 y 50 mL
- Barras agitadoras magnéticas
- Buffer fosfato 0.05 M y 0.1 M a pH 7.0
- Bureta graduada Kimax de 50 mL
- Cloruro de sodio
- Enzimas alimenticias: endopeptidasa papaína Fluka y exopeptidasa flavourzyme, Novo Industries.
- Erlenmeyer de vidrio Kimax, 250 mL
- Espátulas metálicas y plásticas
- Hidróxido de sodio 1N, 6 N, Merck
- Micropipetas Eppendorf
- Morteros y crisoles de porcelana
- Papel absorbente
- Papel parafilm

- Pipetas graduadas de vidrio Kimax de 10 mL
- Pissetas plásticas
- Probetas graduadas 250 y 500 mL
- Vasos de precipitación de vidrio Kimax, 50 y 100 mL

2.1.2.2. Equipos

- Agitador mecánico de hélice Fisher Scientific, Nueva Zelanda
- Balanza electrónica Mettler de 2 kg de capacidad, modelo PE 3600, Estados Unidos
- Centrífuga Damon / IEC HT, Estados Unidos
- Centrífuga Damon /IEC Division, Estados Unidos
- Centrífuga Eppendorf, modelo 5445D, Alemania
- Centrífuga Westfalia, modelo LWA 205, Alemania
- Congeladora, Electrolux, modelo ERT32FQEGW, hasta – 18 °C, Chile
- Cronómetro, Thomas Scientific, modelo 5 500, Estados Unidos
- Equipo de digestión y destilación micro Kjeldah, Selecta modelo 05-01510, España
- Espectrofotómetro UV- VIS, Shimadzu, modelo UV-240, Estados Unidos
- Licuadora marca Osterizer *Super deluxe*, modelo 4655, Estados Unidos
- Liofilizador Stokes, Freezer Dryer, Stokes, modelo 90-2001-8, Estados Unidos
- Placa agitadora regulable, Sargent – Welch, modelo 4817, Estados Unidos
- PH metro, consort, modelo C383, Bélgica
- Reóstato, Voltbox AC,UCIM, Estados Unidos
- Termómetro marca Matheson
- Viscosímetro rotacional Brookfield, modelo RVDV-II+, Estados Unidos

2.2. CARACTERIZACIÓN FÍSICO - QUÍMICA DE LA HARINA DESENGRASADA DE SOYA

2.2.1. PREPARACIÓN DE LA HARINA DE SOYA

La harina, proveniente de la empresa Grasas UNICOL, fue sometida a molienda con un molino Alpine, para obtener un material con tamaño de partícula menor, que permita mejorar el grado de extracción de la proteína.

2.2.2. CARACTERIZACIÓN DE LA HARINA DESENGRASADA DE SOYA

2.2.2.1. Caracterización física

Se determinó el análisis granulométrico, según la norma INEN 517, 1980-12, con 100 g de harina de soya desengrasada y se utilizó una serie de tamices U.S.A. Standard Testing Sieve Nos. 80, 100, 140, 230, 270, 325 que se instalaron en un tamizador Portable Sieve Shaker Model RX-24, con un tiempo de agitación de 15 min. Al finalizar la prueba se determinó el porcentaje de material retenido en cada uno de los tamices.

Se determinó la densidad aparente, según el método 24.003 de la A.O.A.C. (1984), al pesar una cantidad de harina de soya y se transfirió a una probeta de volumen conocido. El cálculo de la densidad aparente se realizó, según la siguiente relación:

$$\text{Densidad aparente} = \frac{\text{Peso de la muestra (g)}}{\text{Volumen ocupado (mL)}}$$

[4]

2.2.2.2. Caracterización química

La composición química de la harina de soya fue determinada con las técnicas de la A.O.A.C. (2005).

Tabla 7. Técnicas analíticas aplicadas para la determinación de la composición proximal de la harina, aislado e hidrolizado de soya

Análisis	Método	Referencia	Principio
Proteína	Método de Kjeldahl	A.O.A.C., 2005	El sulfato de amonio no volátil se forma de la reacción del nitrógeno y el ácido sulfúrico. Durante la digestión se libera el nitrógeno proteico para formar iones de amonio. El ácido sulfúrico oxida la materia orgánica y se combina con el amonio formado, que luego se destila con ácido bórico.
Extracto Etéreo	Método 920.85	A.O.A.C., 2005	Tomar 2 g de muestra y secar con éter anhidro, el cual debe ser preparado anticipadamente. El período de extracción puede variar desde 4 horas a una velocidad de condensación de 5-6 gotas por segundo, a 16 horas a 2-3 gotas por segundo. Secar el extracto durante 30 minutos a 100 °C y pesar.
Fibra Cruda	Método 962.09	A.O.A.C., 2005	Después de hervir la muestra con una mezcla de ácidos, el residuo insoluble es separado e incinerado. El valor de fibra cruda es calculado de la pérdida por calcinación.
Cenizas	Método 923.03	A.O.A.C., 2005	Se coloca en la mufla previamente calentada a 600 °C y mantener a esta temperatura por 2 horas, hasta que las cenizas adquieran un color blanco o grisáceo.
Humedad	Método 925.10	A.O.A.C., 2005	En un recipiente enfriado y tarado, previamente calentado a 130 °C ± 3 °C, pesar unos 2 g de muestra. Poner la cubierta y someter la muestra durante 1 hora en un horno provisto de ventilación a una temperatura de 130 °C ± 3 °C. Transferir el recipiente con su cubierta al desecador y pesar poco después de llegar a la temperatura ambiente. La pérdida de peso es reportada como la humedad.
Carbohidratos	Método de Hart	1971	Es el valor obtenido al restar de 100 la suma de los porcentajes de agua, proteína bruta, cenizas y extracto etéreo.

2.3. ELABORACIÓN DE AISLADOS E HIDROLIZADOS ENZIMÁTICOS DE PROTEÍNA DE SOYA

2.3.1. ELABORACIÓN DEL AISLADO PROTEICO DE SOYA

En la Figura 11, se presenta el diagrama de flujo utilizado en la obtención de aislado proteico de soya, realizado a escala piloto.

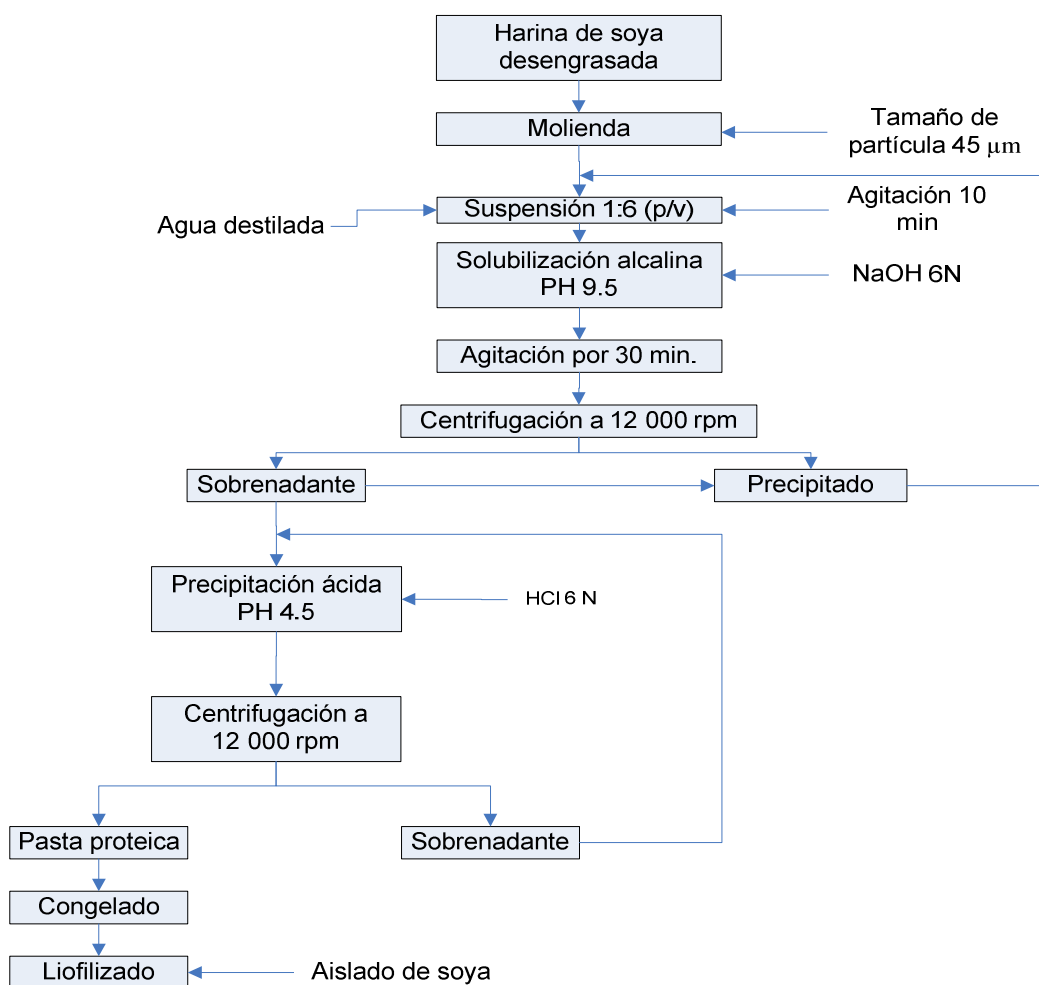


Figura11. Diagrama de flujo del proceso de obtención de aislado de soya a escala piloto

2.3.1.1. Extracción básica

Se preparó una suspensión de harina de soya - agua, a una relación 1:6 (p/v), se agitó por 10 min, para obtener una mezcla homogénea con un agitador mecánico

de hélice. El pH fue ajustado a 9.5 con NaOH 6 N, se agitó por 30 min, se centrifugó a 12 000 rpm en la centrífuga Westfalia y se obtuvo un sobrenadante que fue almacenado y un precipitado.

El precipitado fue sometido a una segunda extracción para mejorar el grado de obtención de la proteína, con una relación 1:5 (p/v), se ajustó el pH a 9.5, se agitó y se centrifugó a las mismas condiciones de la primera extracción. Se recolectaron los dos sobrenadantes obtenidos en el proceso (Munive, 2009).

2.3.1.2. Precipitación ácida

El pH de los sobrenadantes de la primera y segunda extracción básica se ajustó con HCl 6 N, hasta alcanzar el valor de 4.5, punto isoeléctrico de la proteína, luego se agitó por 30 min y se centrifugó a 12 000 rpm, en la centrífuga Westfalia. Se obtuvo un sobrenadante que fue sometido nuevamente al proceso de precipitación y una pasta proteica que fue almacenada. La pasta proteica, fue congelada y almacenada para su posterior liofilización (Munive, 2009).

2.3.2. ELABORACIÓN DE HIDROLIZADO ENZIMÁTICO DE PROTEÍNA DE SOYA

En la Figura 12, se indica el diagrama de flujo del proceso de obtención del hidrolizado enzimático a partir del aislado de soya, bajo el procedimiento utilizado por Munive, 2009.

La hidrólisis, a escala piloto, se realizó en una marmita de doble fondo de 20 L, calentada a vapor. La temperatura fue termostatizada a 50 °C. Se instaló un agitador mecánico de hélice. Las condiciones de la reacción proteolítica secuencial fueron las establecidas por Munive (2009).

El aislado proteico se suspendió a una concentración del 12 % que corresponde a la solubilidad máxima. Se ajustó el pH a 7.0 con HCl 1 N. Se añadieron las enzimas, papaína en una relación enzima / sustrato de 0.025 UA / g y se dejó

actuar por 20 min, al término del cual, se añadió la Flavourzyme, en una relación enzima / sustrato de 40 UPAL / g, con un tiempo de reacción de 40 min.

La reacción hidrolítica fue paralizada con la inactivación de las enzimas por incremento de la temperatura a 92 °C, por 10 min. El hidrolizado fue congelado y deshidratado por liofilización.

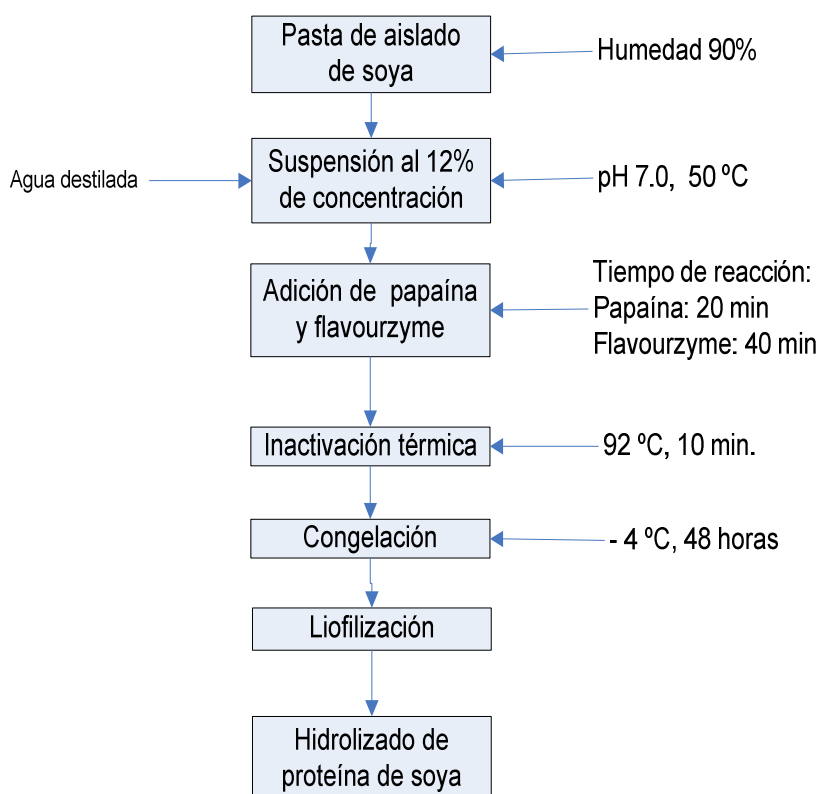


Figura 12. Diagrama de flujo del proceso de obtención del hidrolizado de soya

2.4. CARACTERIZACIÓN FÍSICO – QUÍMICA DEL AISLADO E HIDROLIZADO DE PROTEÍNA DE SOYA

2.4.1. CARACTERIZACIÓN FÍSICA

En el aislado e hidrolizado de proteína de soya, se realizaron análisis de perfil granulométrico y la densidad, mediante los métodos mencionados en el acápite 2.2.2.1.

2.4.2. CARACTERIZACIÓN QUÍMICA

La composición química proximal del aislado e hidrolizado de proteína de soya se determinó con los métodos de análisis mencionados en el acápite 2.2.2.2.

El índice de proteína dispersible, se determinó según el método 46 – 24 de la A.A.C.C (American Association of Cereal Chemists), 1984. El procedimiento se detalla en el Anexo I.

El perfil de aminoácidos, fue analizado por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), con el método propuesto por el Manual Shimadzu, 1993. Los detalles del procedimiento se muestran en el Anexo II.

Se determinó, además en el hidrolizado, el grado de hidrólisis y se utilizó el método descrito por Kim *et al.* (1990), que se basa en medir la proteína soluble de las distintas muestras con ácido tricloroacético (TCA) al 10 %. Se tomaron alícuotas de 2.0 mL de proteína hidrolizada y se añadieron 2.0 mL de TCA, la solución se agitó por 10 min para homogenizar. La mezcla se centrifugó a 5 000 rpm, en la centrífuga Damon por 30 min. La proteína soluble en el sobrenadante y la proteína total se determinaron mediante el método proteína de Kjeldahl.

El grado de hidrólisis fue determinado con la relación:

$$\text{Grado de hidrólisis} = \frac{\text{proteína soluble en TCA}}{\text{proteína total}} \times 100 \%$$

[5]

2.5. DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES FUNCIONALES DEL AISLADO E HIDROLIZADO DE PROTEÍNA DE SOYA

Se determinaron las propiedades funcionales del aislado e hidrolizado de la proteína de soya y se realizó un análisis estadístico para los 2 tratamientos utilizados en cada una de las pruebas, se empleó un análisis de varianza

Multifactor ANOVA. Para los resultados altamente significativos, se ejecutó la Prueba de Significancia de Tukey al 5 % y se utilizó el programa Statgraphics Plus 4.0.

2.5.1. SOLUBILIDAD

El perfil de solubilidad se determinó según el método 46 - 23 de la A.A.C.C. (1984), para lo cual se prepararon suspensiones al 2 % (p/v) en 25 mL de agua destilada, el pH se ajustó a valores de 2.0, 4.0, 6.0, 8.0 y 10.0 por adición de NaOH 1 N y HCl 1 N, según el caso. Las suspensiones se agitaron con una barra magnética, durante 30 min. Se centrifugó a 4 000 rpm, en una centrifuga, durante 30 min. Se tomaron alícuotas de 2 mL de cada uno de los sobrenadantes, en las cuales se determinó el contenido de proteína por el método Kjeldahl.

Los resultados obtenidos se analizaron estadísticamente, se empleó un diseño completamente al azar (DCA), en el cual los tratamientos fueron los diferentes niveles de pH y la variable fue la solubilidad en cada uno de los casos. Si se determinó que la influencia del pH es significativa, se utilizó la prueba de significación Tukey al 5 %, mediante el programa Statgraphics Plus 4.0.

2.5.2. CAPACIDAD DE ABSORCIÓN DE AGUA

La capacidad de absorción de agua se determinó por el método de Naczki (1985). Se pesaron 2 g de muestra y se colocaron en 16 mL de agua destilada, que se agitó por 5 min, en una placa magnética, para homogenizar completamente la mezcla. El pH se ajustó a valores de 2.0, 4.0, 6.0, 8.0 y 10.0 por adición de NaOH 1 N y HCl 1 N, según el caso. Se agitó durante 30 min y se centrifugó a 3 000 rpm, por 10 min. Se desechó cuidadosamente el sobrenadante y el tubo fue invertido por 10 min. El valor de la capacidad de absorción de agua se obtuvo mediante la siguiente relación:

$$\text{Capacidad de absorción de agua} = \frac{\text{Peso del pellet hidratado} - \text{Peso de muestra (base seca)}}{\text{Peso de muestra (base seca)}}$$

Los resultados obtenidos se analizaron estadísticamente, se empleó un diseño completamente al azar (DCA) en el cual los tratamientos fueron los diferentes niveles de pH y la variable fue la absorción de agua en cada uno de los casos. Los tratamientos significativos se analizaron mediante la prueba de significación Tukey al 5 % y se utilizó el programa Statgraphics Plus 4.0.

2.5.3. CAPACIDAD DE ABSORCIÓN DE ACEITE

La capacidad de absorción de aceite se efectuó por el método de Naczki (1985). Para lo cual, se prepararon 6 suspensiones de 2 g de muestra y 12 mL de aceite vegetal comestible. Cada suspensión se colocó en un agitador de placa magnética, durante 5, 10, 15, 20, 25 y 30 min. Cada muestra fue centrifugada a 3 000 rpm, por un tiempo de 15 min.

El aceite libre fue removido y el retenido fue evaluado por la siguiente relación:

$$\text{Capacidad de absorción de aceite} = \frac{\text{Peso del pellet hidratado} - \text{Peso de muestra (base seca)}}{\text{Peso de muestra (base seca)}}$$

[7]

Los resultados obtenidos se analizaron estadísticamente, se empleó un diseño completamente al azar (DCA), en el cual los tratamientos fueron los diferentes tiempos de reposo aplicados y la variable fue la absorción de aceite en cada uno de los casos. Los tratamientos significativos se analizaron mediante la prueba de significación Tukey al 5 % y se utilizó el programa Statgraphics Plus 4.0.

2.5.4. GELIFICACIÓN

Las determinaciones de gelificación se realizaron según el método descrito por Coffmann y García (1977). Se prepararon suspensiones de muestra al 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18 y 20 % (p/v) en 5 mL de agua destilada, el pH se ajustó a 6.0. Se utilizaron tubos de 25 mL, en los que se colocaron las suspensiones y se calentaron por 1 h, en una placa de calentamiento a temperatura de 80 °C. Al término del tiempo establecido, los tubos se enfriaron en un baño de agua fría con

hielo, a una temperatura de 4 °C por 2 h. El grado de formación de geles se determinó por el menor volumen de agua separada que se obtuvo, al invertir el tubo.

Los resultados obtenidos se analizaron estadísticamente, se empleó un diseño completamente al azar (DCA), en el cual los tratamientos fueron las diferentes concentraciones aplicadas en cada uno de los casos y la variable fue la gelificación. Los tratamientos significativos se analizaron mediante la prueba de significación Tukey al 5 % y se utilizó el programa Statgraphics Plus 4.0.

2.5.5. VISCOSIDAD

Las medidas de viscosidad fueron determinadas según el procedimiento descrito en la norma INEN 1013-1983-4. La viscosidad aparente se realizó en el viscosímetro de Brookfield y se utilizó el eje Small adapter, S21. Se evaluaron los efectos de concentración, pH y temperatura, para lo cual se prepararon suspensiones acuosas al 8, 10, 12, 14, 16, 18 y 20 % (p/v), ajustadas a pH 7.0 y estabilizadas a temperatura de 20 °C. El efecto de pH se valoró en suspensiones de muestra al 18 % (p/v), el pH se ajustó a valores de 2.0, 4.0, 6.0, 8.0 y 10.0, termostatizadas a 20 °C. El efecto de temperatura fue determinada en suspensiones al 18 % (p/v), pH 7.0 y a temperaturas de 20, 30, 40 y 50 °C, que fueron estabilizadas en un baño termostatizado.

Los resultados obtenidos se analizaron estadísticamente, se empleó un diseño completamente al azar (DCA), en el cual los tratamientos fueron la concentración, pH y temperatura en cada uno de los casos analizados y la variable fue la viscosidad. Los tratamientos significativos se analizaron mediante la prueba de significación Tukey al 5 % y se utilizó el programa Statgraphics Plus 4.0.

2.5.6. CAPACIDAD Y ESTABILIDAD DE EMULSIÓN

El efecto de la concentración en la capacidad de emulsión, se determinó con el método descrito por Sathe y Salunkhe, (1981), para lo cual se prepararon

suspensiones de muestra al 2, 4, 6, 8 y 10 % (p/v), en un volumen de 50 mL y se ajustó el pH a 4.0. Cada suspensión fue homogenizada en una licuadora a 4 000 rpm, por 30 s, al término de los cuales se añadió aceite comestible gota a gota, hasta que se observó el colapso de la emulsión o punto de inversión. Este punto de inversión fue registrado por el aumento brusco de la resistencia eléctrica, medida en un multímetro. La capacidad de emulsión fue valorada como la cantidad de aceite añadido, hasta alcanzar el punto de inversión.

Se analizó el efecto del pH en la capacidad y estabilidad de emulsión, mediante el método descrito por Chau *et al*, (1997). Se prepararon 100 mL de suspensión de proteína al 2 % (p/v), el pH fue ajustado a valores de 2.0, 4.0, 6.0, 8.0 y 10.0 con la adición de NaOH 1 N y HCl 1 N, según el caso. La emulsión se realizó en una licuadora a una velocidad de 2 000 rpm, por 2 min. Se añadieron 100 mL de aceite comestible gota a gota y se homogenizó por un minuto más. Las muestras se colocaron en tubos de 50 mL y se centrifugaron a 2 000 rpm por 5 min, y se determinó el volumen de emulsión. La capacidad emulsificante fue calculada mediante la siguiente relación:

$$AE \% = \frac{\text{Volumen de capa emulsificada}}{\text{Volumen total}} \times 100 \%$$

[8]

Para la determinación de la estabilidad de emulsión (EE), se prepararon suspensiones de 100 mL al 2 % (p/v), el pH fue ajustado a valores de 2.0, 4.0, 6.0, 8.0 y 10.0 con adición de NaOH 1 N y HCl 1 N, según el caso, se homogenizaron en licuadora a 2 000 rpm por 2 min. Se adicionó 100 mL de aceite comestible gota a gota, y se homogenizó durante un minuto. Las emulsiones formadas se calentaron a 80 °C por 30 min y se enfriaron a temperatura ambiente. Las muestras fueron centrifugadas a 2 000 rpm, en tubos graduados, por 5 min. Se midió el volumen de la emulsión registrada. La estabilidad de emulsión se calculó con la siguiente relación:

$$EE \% = \frac{\text{Volumen de capa emulsificada remanente}}{\text{Volumen de la emulsión original}} \times 100 \%$$

[9]

Los resultados obtenidos se analizaron estadísticamente, se empleó un diseño completamente al azar (DCA) en el cual Los tratamientos fueron la concentración y el pH en cada uno de los casos analizados y la variable fue la capacidad de emulsión. Los tratamientos significativos fueron analizados con la prueba de significación Tukey al 5 % y se utilizó el programa Statgraphics Plus 4.0.

2.5.7. CAPACIDAD Y ESTABILIDAD DE ESPUMA

Para evaluar la capacidad y estabilidad de espuma de aislado e hidrolizado se siguió el método de Chau *et al.* (1977). Se determinaron los efectos de la concentración, el pH y la fuerza iónica y se evaluó el tiempo de estabilidad, en todos los casos.

El efecto de la concentración fue determinado en suspensiones de 2, 4, 6, 8 y 10 % (p/v), ajustadas a pH 6.0. La determinación del efecto del pH a valores de 2.0, 4.0, 6.0, 8.0 y 10.0, se evaluó en suspensiones al 2 %. La fuerza iónica se determinó mediante la adición de NaCl, a concentraciones de 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.5 y 2.0 % (p/v), en suspensiones de muestra al 2 % y ajustadas a pH 6.0.

Se prepararon suspensiones de 50 mL de proteína para cada caso, que se homogenizaron en una licuadora, a 2 000 rpm, durante 5 min. El contenido final se trasvasó a una probeta graduada y se midió el volumen de espuma, después de 30 s. El resultado se expresó como el incremento de volumen en porcentaje y se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$IV \% = \frac{V_f - V_o}{V_o} \times 100 \%$$

[10]

Donde:

IV = Incremento de volumen

V_f = Volumen después del batido (mL)

V_o = Volumen antes del batido (mL)

La estabilidad de espuma se evaluó para cada caso, y se determinó la disminución de volumen de espuma y líquido drenado, para tiempos de 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0 y 8.0 h.

Los resultados obtenidos se analizaron estadísticamente, se empleó un diseño completamente al azar (DCA), en el cual los tratamientos fueron la concentración, el pH y el efecto iónico, y la variable fue la capacidad de formación de espuma en cada uno de los casos aplicados. Los tratamientos significativos fueron analizados con la prueba de significación Tukey al 5 % y se utilizó el programa Statgraphics Plus 4.0.

2.6. DETERMINACIÓN DE LOS USOS DE LA PROTEÍNA DE SOYA COMO INGREDIENTE FUNCIONAL PARA PROPÓSITOS ALIMENTICIOS

La determinación de los diferentes usos del aislado e hidrolizado de proteína de soya fueron relacionados con los datos obtenidos y con los de referencias bibliográficas, utilizados de acuerdo con sus propiedades en las diferentes clases y tipos de alimentos.

Los datos fueron tabulados, evaluados y graficados de cada una de las propiedades funcionales tanto del aislado como del hidrolizado de proteína de soya.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. CARACTERIZACIÓN FÍSICO – QUÍMICA DE LA HARINA DESENGRASADA DE SOYA

3.1.1. CARACTERIZACIÓN FÍSICA

3.1.1.1. Análisis granulométrico

En la Figura 13, se presenta el perfil granulométrico de la harina desengrasada de soya, se determinó que el 94.00 % de la harina de soya desengrasada tiene un tamaño menor a 180 μm y el 6.0 % una granulometría mayor a 180 μm . Estos datos muestran que el 94.00 % del material total pasó por el tamiz No. 80 y un 90.03 % por el tamiz No. 100, lo que indica que este tipo de molienda da como resultado una harina fina, debido a que las harinas con partículas de tamaño menor a 212 μm , son consideradas harinas finas (Sandoval *et al.*, 2005). Los datos experimentales se presentan, en la Tabla 18 en el Anexo III.

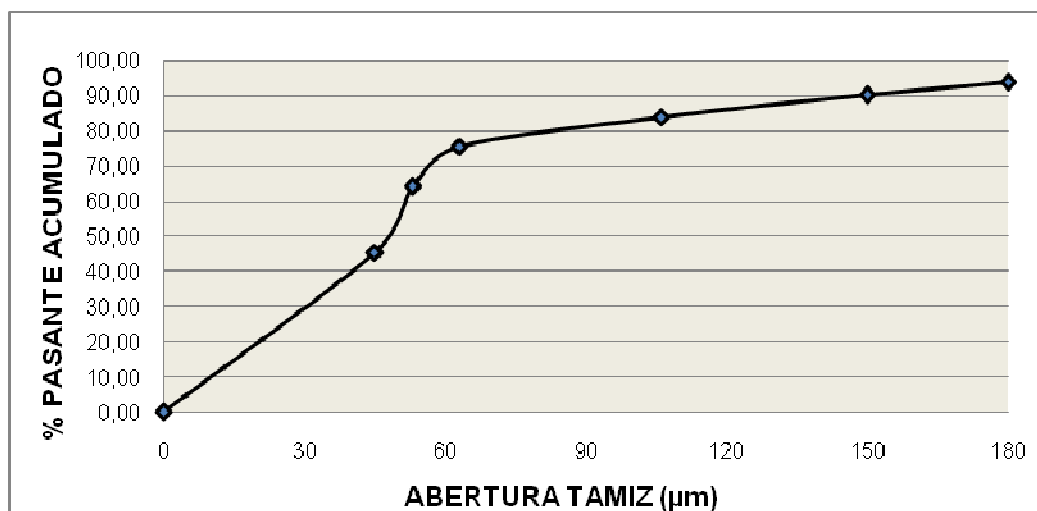


Figura 13. Perfil granulométrico de la harina desengrasada de soya

3.1.1.2. Densidad

La harina de soya desengrasada proveniente de la empresa Grasas UNICOL, pasó por una segunda molienda en el molino Alpine, para obtener un mejor grado

de extracción de la proteína. El valor de la densidad aparente de la harina de soya desengrasada fue de 0.55 g/cm³.

3.1.2. CARACTERIZACIÓN QUÍMICA

En la Tabla 8, se detallan los resultados obtenidos en la composición proximal, se observa que los componentes mayoritarios son la proteína con el 54.54 % y los carbohidratos con el 34.71 % y un bajo contenido de grasa con el 0.49 % valores que indican que el procesamiento del fréjol de soya, para la obtención de harina se realizó por tratamiento con solvente. En general, los valores presentados se encuentran en los rangos de una harina rica de proteína y lista para su uso en alimentos (Cheftel *et al.*, 1989).

Tabla 8. Composición proximal de la harina de soya desengrasada (g /100 g)

Determinación	Contenido en 100 g de harina
Proteína (Nx6.25)	54.54 ± 0.03
Extracto Etéreo	0.49 ± 0.15
Carbohidratos totales	34.71 ± 0.13
Fibra Cruda	4.04 ± 0.40
Cenizas	6.18 ± 0.12
Humedad	4.08 ± 0.02

Datos promedio de 2 determinaciones

3.2. OBTENCIÓN DEL AISLADO E HIDROLIZADO ENZIMÁTICO DE LA PROTEÍNA DE SOYA

3.2.1. OBTENCIÓN DEL AISLADO PROTEICO DE SOYA

3.2.1.1. Rendimiento de proceso

La extracción de la proteína de soya en una suspensión harina – agua 1:6 (p/v), en medio alcalino pH 9.5 y precipitación en el punto isoelectrico 4.5, permitió rendimiento del 24.55 %, con respecto a la harina desengrasada de soya, debido

a la eliminación de carbohidratos solubles e insolubles. En la Figura 14, se presenta el balance de masa del proceso utilizado para la obtención del aislado proteico. En el Anexo IV, Tabla 21 se presentan los resultados obtenidos.

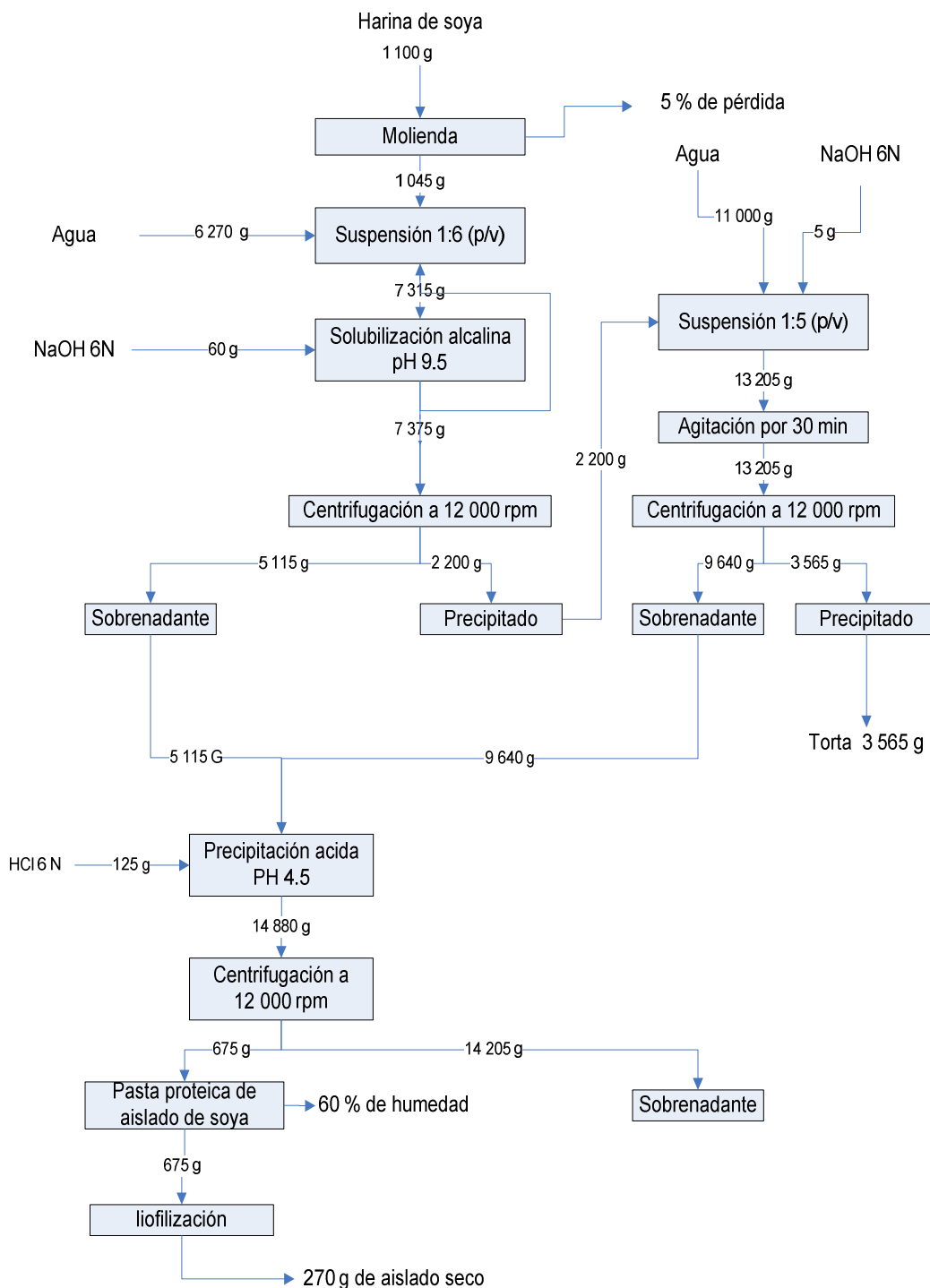


Figura 14. Balance de masa para la obtención del aislado de soja

El contenido de proteína del aislado de soya fue del 85.45 % a una relación 1:6 (p/v), debido a la utilización de una partícula fina de harina 45 μm , a la relación sólido / líquido y al pH alcalino, en el cual la proteína se vuelve más soluble. En la Figura 37, en el Anexo XIV, se presentan las fotografías del proceso de obtención del aislado proteico de soya.

3.2.2. OBTENCIÓN DEL HIDROLIZADO DE SOYA POR VÍA ENZIMÁTICA

En la Figura 15, se presenta la hidrólisis enzimática secuencial a partir del aislado proteico de soya, a condiciones de pH 7.0 y temperatura de 50 $^{\circ}\text{C}$ y con una relación de enzima/sustrato 0.025 UA/g de sustrato y 40.0 LAPU/g de sustrato para la papaína y Flavourzyme, respectivamente. Los resultados obtenidos corresponden al grado de hidrólisis (GH) producido por la acción catalítica de las enzimas.

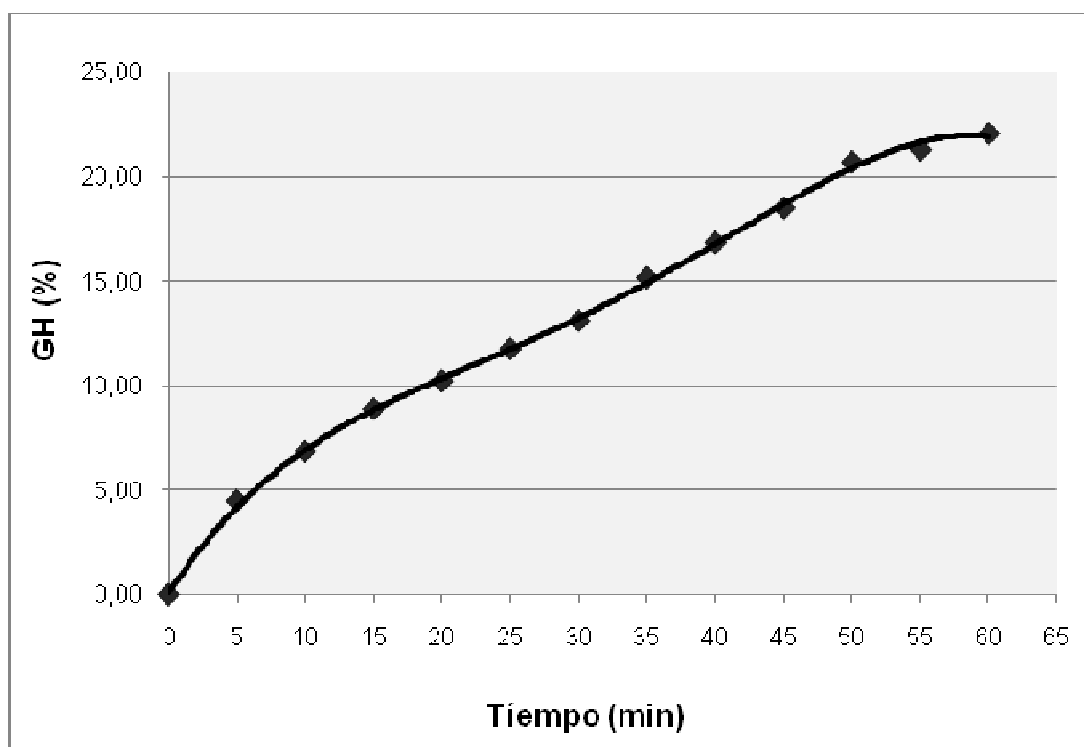


Figura 15. Grado de hidrólisis (GH) producido por la acción secuencial de las enzimas papaína y flavourzyme.

Con la acción catalítica de las enzimas se obtuvieron grados de hidrólisis de 4.48, 6.86, 8.88 y 10.23 % luego de 5, 10, 15 y 20 min de reacción. Al término de este

tiempo, se añadió la flavourzyme con un tiempo de reacción de 40 min, con un tiempo total de hidrólisis de 60 min. Se alcanzaron grados de hidrólisis de 11.17, 13.11, 15.17, 16.84, 18.50, 20.70, 21.29 y 22.07 % en tiempos de reacción de 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55 y 60 min respectivamente.

El grado de hidrólisis total alcanzado, a los 60 min, fue del 22.07 %, por lo que es considerado como un hidrolizado extensivo, que están destinados a una alimentación especializada, bien como suplemento proteico o en dietas medicas. Además, la hidrólisis proteica va a producir un incremento de la solubilidad, propiedad necesaria para la mejora de otras propiedades funcionales (Tschimirov *et al.*, 1983). Otro factor que también va a influir en la funcionalidad de estos tipos de hidrolizados es la exposición de residuos hidrófobos de la proteína que estaban inmersos en la proteína natural (Panyam *et al.*, 1996). Los resultados se presentan, en la Tabla 22 en el Anexo V.

En la Figura 38, en el Anexo XV, se indican las fotografías relacionadas con el proceso de obtención del hidrolizado enzimático.

3.2.2.1. Rendimiento del proceso

El rendimiento, en peso, para la obtención del hidrolizado enzimático de soya fue del 87.13 %, con respecto al aislado de proteína de soya. Los resultados se presentan en el Anexo IV.

En la Figura 17, se observa el balance de masa para la obtención del hidrolizado de proteína de soya, que fueron tomados como peso inicial, para los diferentes cálculos de rendimiento y caracterización química. Los valores obtenidos de rendimiento y recuperación en el hidrolizado son superiores a los del aislado, debido a que, la materia prima para los cálculos obtenidos fue el aislado que tiene un valor alto de proteína (85.45 %) en comparación con la harina desengrasada de soya. Mientras que los cálculos del aislado, se realizaron a partir de la harina de soya desengrasada como materia inicial, que presenta un valor menor de proteína (54.54 %).

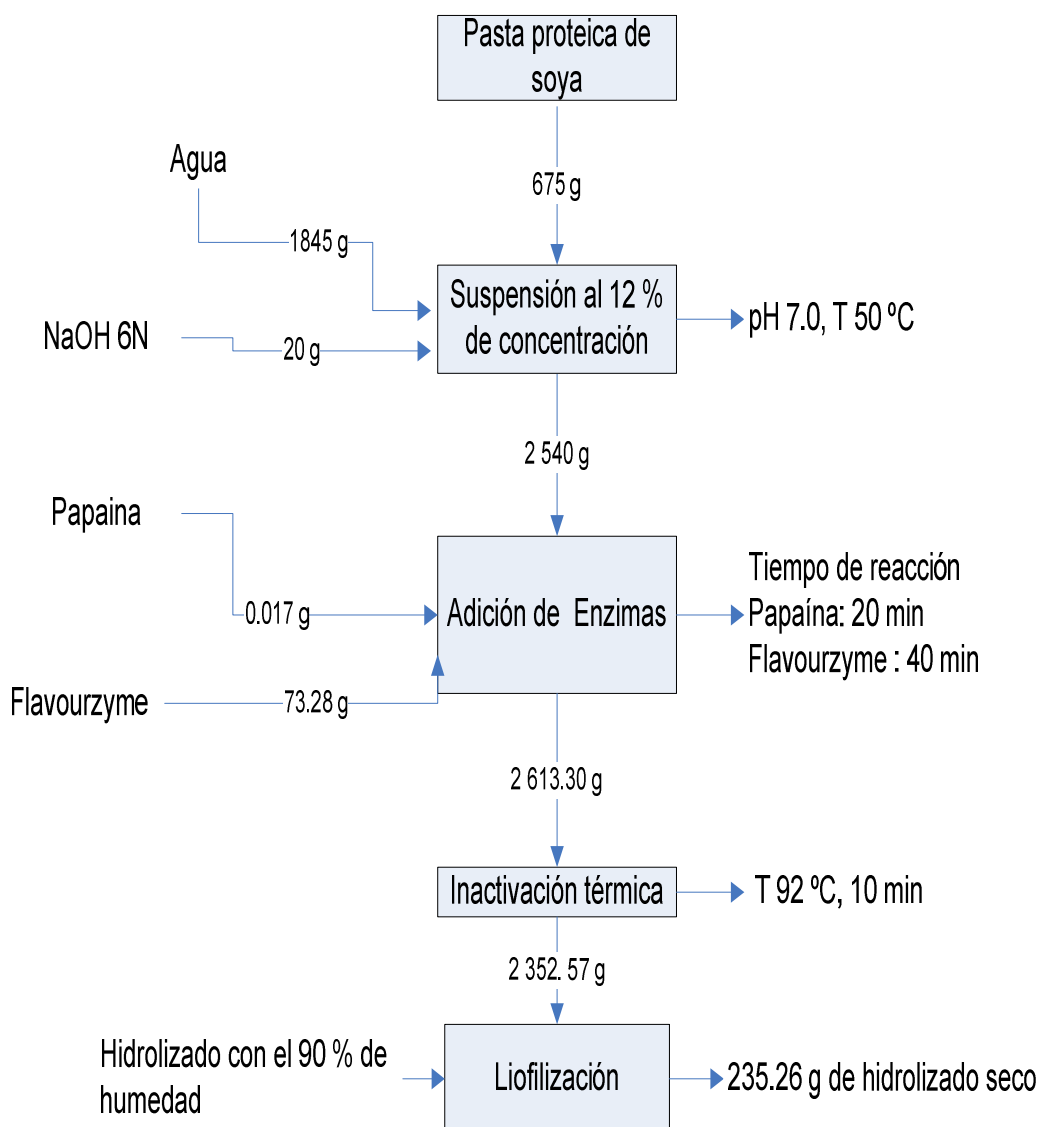


Figura 16. Balance de masa para la obtención del hidrolizado de soya

3.3. CARACTERIZACIÓN FÍSICO – QUÍMICA DEL AISLADO E HIDROLIZADO DE PROTEÍNA DE SOYA

3.3.1. CARACTERIZACIÓN FÍSICA DEL AISLADO

3.3.1.1. Análisis granulométrico

En la Tabla 19 en el Anexo III, se presentan los datos del análisis granulométrico del aislado de proteína de soya, se determinó que el 96.85 % del aislado proteico

lío­filizado tiene un tamaño menor a 180 μm y el 3.15 % mayor a 180 μm . Estos datos muestran que el 96.85 % del material total pasó por el tamiz No. 80 y un 90.91 % por el tamiz No. 100. Lo que indica que este tipo de molienda da como resultado harinas finas, características de las harinas con tamaño de partícula menor a 212 μm (Sandoval *et al.*, 2005). El gráfico de tamaño de partícula del aislado se presenta en la Figura 17.

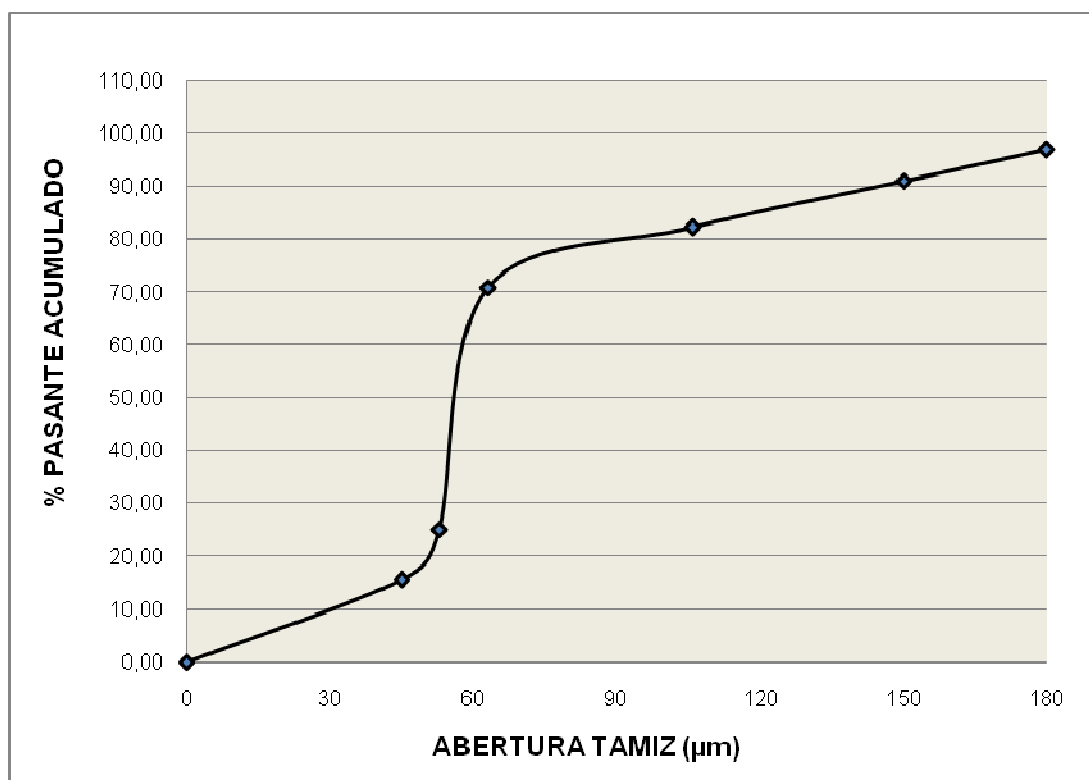


Figura 17. Perfil granulométrico del aislado proteico de soja

3.3.1.2. Densidad

Las determinaciones de densidad aparente se realizaron en material de aislado lío­filizado y molido en un molino Hamilton Beach, con un valor promedio de 0.69 g/cm^3 .

3.3.2. CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DEL AISLADO

En la Tabla 9, se presenta la composición proximal del aislado proteico de soja. Los datos obtenidos indican que el componente mayoritario fue de la proteína con

el 85.45 %, con un incremento del 30.91 %, en relación al contenido en la harina de soya desengrasada, esto es debido a la eliminación de carbohidratos solubles e insolubles del 30.56 % (Cheftel *et al.*, 1989).

Las cantidades porcentuales de extracto etéreo, de fibra, de cenizas y de carbohidratos son valores que en comparación con la harina se vieron afectados en una disminución en su cantidad inicial, debido a que, para la obtención del aislado se utilizó procesos de solubilización básica y ácida y a los lavados, utilizados en la extracción de proteína. El índice de proteína dispersible (PDI), fue del 88.43 %.

Tabla 9. Composición proximal del aislado proteico de soya (g/100 g)

Determinación	Contenido en 100 g de aislado
Proteína (Nx6.25)	85.45 ± 0.02
Extracto Etéreo	0.30 ± 0.14
Carbohidratos totales	4.15 ± 0.12
Fibra Cruda	2.10 ± 0.20
Cenizas	4.32 ± 0.18
Humedad	5.78 ± 0.08

Datos promedios de 2 determinaciones

3.3.2.1. Perfil de aminoácidos

En la Tabla 10, se presenta el perfil de aminoácidos de la harina desengrasada, aislado e hidrolizado enzimático de soya. Las diferencias más significativas se pueden observar en los aminoácidos azufrados (Cisteína, Metionina) en cada uno de los productos proteicos, pero con menor valor en el aislado proteico de soya, debido a que en los procesos de obtención de aislados e hidrolizados, a pH muy alcalinos se quedan en el residuo de la extracción lo que provoca una pérdida mayor de dichos aminoácidos azufrados (Badui, 2006).

En cambio los aminoácidos como la lisina, arginina, leucina, isoleucina, prolina, serina, treonina, ácido aspártico y ácido glutámico, presentan mayor

concentración en el aislado e hidrolizado que en la harina de soya desengrasada. La proteína de soya es rica en lisina, que es limitada en los cereales, que son generalmente ricos en aminoácidos azufrados. Por su alto contenido de lisina se ha sugerido usarla, como complemento de las proteínas de los cereales (Liu, 1999).

Tabla 10. Perfil de aminoácidos de la harina, aislado e hidrolizado de la proteína de soya expresados en (g de aminoácidos / 100 g de proteína)

Aminoácido	Harina	Aislado	Hidrolizado
Ácido aspártico	8.20	10.58	10.20
Treonina	2.30	3.01	2.90
Serina	3.50	4.55	4.80
Ácido glutámico	17.30	19.13	19.10
Prolina	3.72	4.02	3.50
Glicina	3.70	3.85	3.90
Alanina	3.20	3.30	3.40
Cisteína	1.09	1.21	1.18
Valina	3.00	3.60	3.00
Metionina	0.90	1.12	1.13
Isoleucina	3.00	3.57	3.50
Leucina	5.20	6.02	6.00
Tirosina	2.90	2.90	3.40
Fenilalanina	2.20	2.53	2.50
Histidina	2.15	2.14	2.14
Lisina	5.40	6.00	5.90
Arginina	6.00	9.20	9.00
Triptófano	1.00	1.40	1.39

En cuanto tiene que ver con los aminoácidos presentes en el hidrolizado no se observa ningún cambio drástico en el contenido de aminoácidos, aunque también presenta valores bajos de aminoácidos azufrados, debido a que, la hidrólisis enzimática no alteró en gran escala el contenido de proteína total y aminoácidos del aislado, sin embargo la hidrólisis ácida de las proteínas, previa su inyección en el HPLC, generalmente introduce una cierta pérdida, particularmente de la cisteína, lo cual puede haber contribuido a las bajas concentraciones para estos

aminoácidos, como es el caso del aislado e hidrolizado de soya (Bernardi *et al.*,1991).

3.3.3. CARACTERIZACIÓN FÍSICA DEL HIDROLIZADO

3.3.3.1. Análisis granulométrico

En la Tabla 20 en el Anexo III, se indica el análisis granulométrico del hidrolizado liofilizado de soya, y se determinó que el 96.25 % del hidrolizado enzimático de soya liofilizado tiene un tamaño menor a 80 μm y el 3.75 % una granulometría mayor a 80 μm . Estos datos muestran que el 96.25 % del material total pasó por el tamiz No. 80 y un 91.40 % por el tamiz No. 100, lo que indica que este tipo de molienda da como resultado harinas finas, debido a que presentan un tamaño de partícula menor a 212 μm (Sandoval *et al.*, 2005). El tamaño de partícula del hidrolizado se presenta, en la Figura 18.

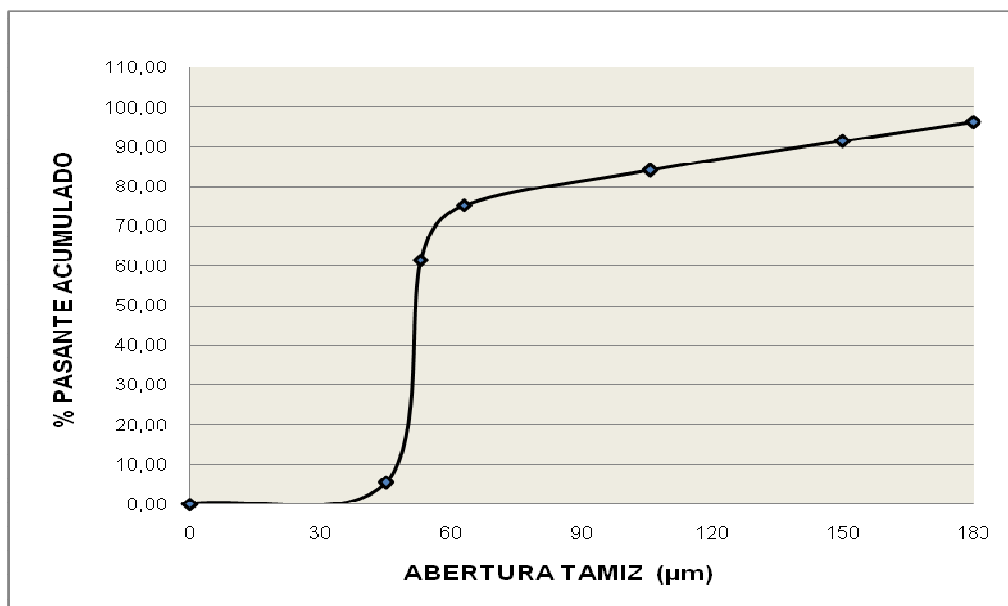


Figura 18. Perfil granulométrico del hidrolizado enzimático de soya

3.3.3.2. Densidad

El tamaño de partícula del hidrolizado enzimático de proteína de soya, se homogenizó en un molino Hamilton Beach, y se obtuvo un material más fino, en el que se determinó el valor de densidad aparente de 0.63 g/cm^3 .

3.3.4. CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DEL HIDROLIZADO

En la Tabla 11, se presentan los datos obtenidos del análisis proximal del hidrolizado enzimático de soya, con un valor alto de proteína del 88.53 %, debido a que, la hidrólisis permite una mayor concentración de la proteína y grado de extracción.

El incremento del valor de la proteína del hidrolizado, con respecto al valor del aislado fue del 3.08 %. Los valores de extracto etéreo, carbohidratos totales y fibra cruda son más bajos que los contenidos en el aislado, debido a una mayor purificación de la proteína. El porcentaje de cenizas fue del 3.63 %, debido a la presencia de sales, en los ajustes de pH para el desarrollo de la hidrólisis, lo que podría afectar en la funcionalidad de los productos, por lo que se recomienda realizar más lavados en el aislado. El índice de proteína dispersible (PDI), fue del 85.24 %.

Tabla 11. Composición proximal del hidrolizado enzimático de soya (g /100 g)

Determinación	Contenido en 100 g de hidrolizado
Proteína (Nx6.25)	88.53 ± 0.03
Extracto Etéreo	0.20 ± 0.17
Carbohidratos totales	2.83 ± 0.13
Fibra Cruda	1.39 ± 0.40
Cenizas	3.63 ± 0.12
Humedad	4.81 ± 0.02

Datos promedios de 2 determinaciones

3.4. DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES FUNCIONALES DEL AISLADO E HIDROLIZADO DE LA PROTEÍNA DE SOYA

Las proteínas en virtud de las diversas propiedades físico químicas que son el resultado de la flexibilidad de su estructura, proporcionan varios atributos funcionales en un sistema de alimentos.

Las propiedades funcionales del aislado e hidrolizado de la proteína de soya fueron determinadas y analizadas para su uso en alimentos.

3.4.1. SOLUBILIDAD

El Anova resultó altamente significativo en la solubilidad del aislado e hidrolizado de proteína de soya, a los diferentes pH analizados. La prueba de significancia de Tuckey (5 %) para la solubilidad, determinó que los mayores contenidos de proteína se obtuvo a los siguientes pH: 10.0^a, 2.0^b y 8.0^c, para el aislado y 10.0^a, 2.0^b, para el hidrolizado. Los datos experimentales expresados como el porcentaje de proteína soluble para el aislado e hidrolizado de proteína de soya, en rangos de pH de 2.0 a 10.0, se presentan en la Tabla 23, en el Anexo VI. En la Figura 19, se presenta la gráfica de solubilidad del aislado e hidrolizado proteico de soya en función del pH.

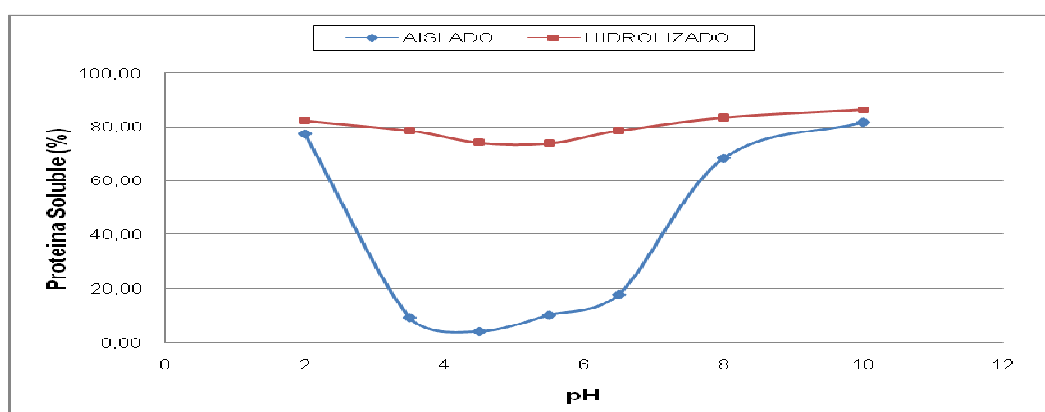


Figura 19. Perfil de solubilidad del aislado e hidrolizado de la proteína de soya

En el aislado de soya a pH alejados del punto isoeléctrico (4.5) aumenta hasta valores del 81.87 %, comportamiento debido a la presencia de cargas negativas y/o positivas que reaccionan con las moléculas de agua y contribuyen a un mayor grado de solubilidad de la proteína. En el punto isoeléctrico, la solubilidad del aislado fue del 4.16 %, debido a que las moléculas proteicas que presentan un mínimo de interacciones con el agua y sus cargas netas son lo bastantes débiles para que puedan aproximarse a las cadenas peptídicas (Cheftel *et al.*, 1989).

La solubilidad en el hidrolizado enzimático de proteína que está en el rango de 73.99 – 86.25 %, en valores de pH de 2.0 a 10.0, no presentó agregados voluminosos en el punto isoeléctrico. La reacción hidrolítica da como resultado unidades peptídicas más pequeñas y la exposición de grupos amino y carboxilo ionizables, con la unión de moléculas de agua a la estructura proteica (Chobert *et al.*, 1988).

Es de importancia obtener una proteína altamente soluble, medido como el índice de solubilidad de nitrógeno (PDI), que indica el grado de desnaturalización de la proteína, cualidad que muestra su uso óptimo para algunos alimentos (Kinsella. 1979).

3.4.2. CAPACIDAD DE ABSORCIÓN DE AGUA

El Anova resultó altamente significativo en la capacidad de absorción de agua del aislado e hidrolizado de proteína soya, a los diferentes pH analizados. La prueba de significancia de Tuckey (5 %) para la capacidad de absorción de agua, determinó que los mayores contenidos de agua se obtuvo a los siguientes pH: 10.0^a, 2.0^b, para el aislado y 10.0^a, 2.0^b, para el hidrolizado, como se presenta en la Tabla 24, en el Anexo VII. En la Figura 20, se observa la capacidad de absorción de agua del aislado e hidrolizado de soya.

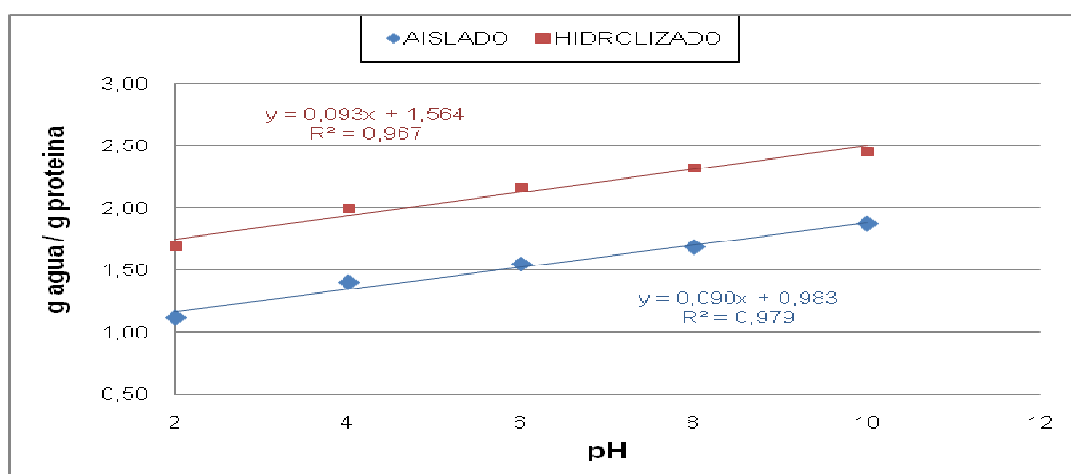


Figura 20. Capacidad de absorción de agua del aislado e hidrolizado de la proteína de soya

En el aislado los valores de absorción de agua se incrementan en el 68.46 % y en el hidrolizado en el 45.83 % respecto a los valores registrados en pH 2.0 a pH 10.0, debido a la eliminación de carbohidratos, a la ruptura de la estructura cuaternaria, y a la exposición de los sitios polares, tales como grupos amino y carboxilo. Las variaciones de pH, al modificar la ionización y carga neta de la molécula, pueden alterar las fuerzas atractivas y repulsivas entre proteína y su capacidad para asociarse con el agua (Cheftel *et al.*, 1989).

Los valores obtenidos de capacidad de retención de agua en el hidrolizado enzimático de proteína de soya son superiores, en comparación con el aislado proteico, ya que mejoran la distribución de los grupos polares y permiten una mayor interacción entre el agua y las moléculas proteicas (Elizalde, 1996).

En valores alejados del punto isoeléctrico la proteína adquiere carga, que genera interacciones hidrofílicas que permiten atrapar moléculas de agua y producir una mejor hidratación. Además, el tamaño, la porosidad superficial y porosidad interna de las partículas proteicas deshidratadas también influyen en la capacidad de retención de agua (Liu, 1999).

3.4.3. CAPACIDAD DE ABSORCIÓN DE ACEITE

El Anova resultó altamente significativo en la capacidad de absorción de aceite del aislado e hidrolizado de proteína de soya, a los diferentes tiempos de reposo analizados. La prueba de significancia de Tuckey (5 %) para la absorción de aceite, determinó que los mayores contenidos de aceite, se obtuvo a los siguientes tiempos (min): 20^a para el aislado y 30^a para el hidrolizado, como se presenta en la Tabla 25, en el Anexo VIII.

En la Figura 21, se presentan los valores alcanzados de absorción de aceite en función del tiempo de reposo, se observó que el aislado presentó valores más altos frente a los del hidrolizado, con un valor máximo de 1.60 g aceite / g de proteína, registrado a los 20 min de reposo. La baja capacidad de absorción de aceite en el aislado a mayor tiempo de exposición, puede deberse a la presencia

de cadenas polares, los puentes hidrófobos que permiten que existan una interacción entre las cadenas alifáticas apolares del lípido y las regiones apolares de las proteínas (Cheftel *et al.*, 1989).

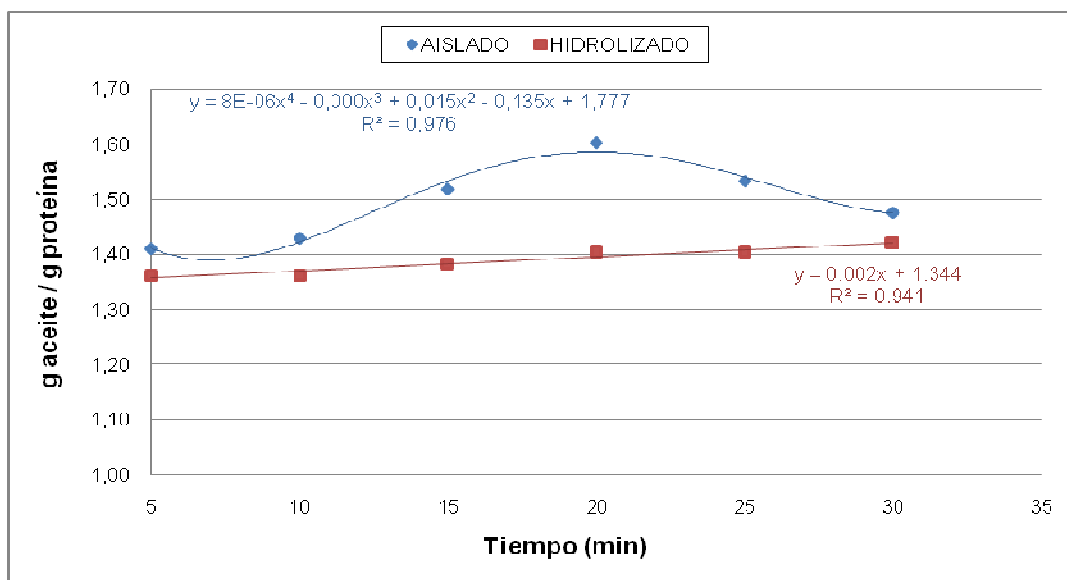


Figura 21. Capacidad de absorción de aceite del aislado e hidrolizado de la proteína de soya

La capacidad de absorción de aceite que experimenta el hidrolizado enzimático es, directamente proporcional al tiempo de exposición, $R^2 = 0.941$. Los valores experimentales están en el orden del 1.42 g aceite / g proteína, efecto debido a que la hidrólisis provocó grupos hidrofílicos, cambios de composición y conformación molecular (Villacrés, 2001).

3.4.4. GELIFICACIÓN

En las proteínas globulares, el desdoblamiento de las moléculas proteicas aumenta la exposición de los grupos reactivos, como los grupos hidrofóbicos. Las interacciones hidrofóbicas, son interacciones fuertes que existen entre moléculas o las partes no polares de las moléculas y representan una parte fundamental de la posterior agregación (Voutsinas *et al.*, 1983).

La prueba de significancia de Tuckey (5 %) para la gelificación, determinó que los menores valores de mL de agua separada, se obtuvo a las siguientes

concentraciones de proteína (%): 10^a, 12^b para el aislado y 16^a, 18^a para el hidrolizado, como se presenta en la Tabla 12.

Tabla 12. Formación de geles en función de la concentración del aislado e hidrolizado de soya (mL de agua separada)

Concentración	AISLADO		HIDROLIZADO		
	mL de agua separada	Grupo Homogéneo	Concentración	mL de agua separada	Grupo Homogéneo
10 %	0.53 ± 0.06	A	16 %	0.33 ± 0.01	A
12 %	1.10 ± 0.10	B	18 %	0.43 ± 0.38	A
8 %	2.10 ± 0.10	C	20 %	0.90 ± 0.10	AB
6 %	2.93 ± 0.12	D	14 %	1.20 ± 0.20	AB
4 %	3.13 ± 0.06	DE	12 %	1.67 ± 0.58	BC
2 %	3.17 ± 0.15	DE	10 %	2.33 ± 0.58	C
14 %	3.63 ± 0.15	F	8 %	3.67 ± 0.58	D
16 %	3.40 ± 0.17	EF	2 %	3.97 ± 0.06	D
18 %	4.07 ± 0.12	G	4 %	4.10 ± 0.10	D
20 %	4.53 ± 0.15	H	6 %	4.30 ± 0.26	D

Letras diferentes por columna indican diferencia significativa (Tuckey 5%)

Datos promedio de 3 determinaciones

Los datos obtenidos indicaron que la mejor concentración para la formación de geles, fueron del 10 % en el caso de aislado y del 16 % para el hidrolizado. En los dos casos se observó que hubo la formación de redes proteicas, en el aislado son más consistentes que en el hidrolizado, debido a que las atracciones proteicas intermoleculares se producen rápidamente con concentraciones proteicas elevadas, dada su mayor probabilidad de contactos intermoleculares (Cheftel *et al.*, 1989).

La exposición de productos proteicos a temperaturas de calentamiento seguidas por un enfriamiento produce la gelificación, debido a la desnaturalización de la proteína y la habilidad de formar nuevos enlaces en las internación proteína – proteína, proteína – disolvente y fuerzas atractivas y repulsivas entre cadena polipépticas próximas, que favorecen la formación de redes proteicas compactas (Mangino, 1984).

La desnaturalización permite que exista un aumento entre las interacciones proteína - solvente, la conformación de la proteína se altera y algunas interacciones quedan rotas, las áreas hidrofóbicas ocultas quedan libres, en el interior de la molécula y pueden participar en nuevas interacciones. Esto anima a que la cantidad de absorción de agua presente en la proteína pueda aumentar y mejorar la formación de redes tridimensionales (Mangino, 1992). Las reacciones de agregación o las interacciones proteína – proteína con relación a las interacciones proteína – disolvente, conducen a la formación de una gran coagulo, y las moléculas desnaturalizadas se agregan para formar una red proteica ordenada.

3.4.5. VISCOSIDAD

La viscosidad de un fluido indica su resistencia al deslizamiento, el principal factor que influye en el comportamiento viscosímetro de los fluidos proteicos, es el diámetro de las moléculas o partículas dispersas.

3.4.5.1. Efecto de la concentración en la viscosidad

El Anova resultó que no existe significancia entre la viscosidad del aislado e hidrolizado de proteína de soya, a las diferentes concentraciones analizadas. La prueba de significancia de Tuckey (5 %) para cada uno de los casos analizados, determinó que los mayores valores de viscosidad, se obtuvo a las siguientes concentraciones (%): 20^a, 18^b, para el aislado y 20^a, 18^b, para el hidrolizado, como se indica en la Tabla 26, en el Anexo IX.

El aislado proteico presentó valores similares de viscosidad con respecto al hidrolizado, debido a que, en los 2 casos se guarda relación con su buena capacidad de absorción de agua, propiedad que influye en el comportamiento viscoelástico de los productos proteicos (Cheftel *et al.*, 1989).

La Figura 22, muestra un incremento exponencial de la viscosidad en función de la concentración en el aislado ($y = 2.155 e^{0.198x}$, $R^2 = 0.994$) e hidrolizado

($y = 0.845 e^{0.251x}$, $R^2 = 0.989$) de la proteína de soya, debido a las interacciones proteína – proteína. Por estas interacciones el comportamiento refluidificante es, más acusado a altas concentraciones proteicas.

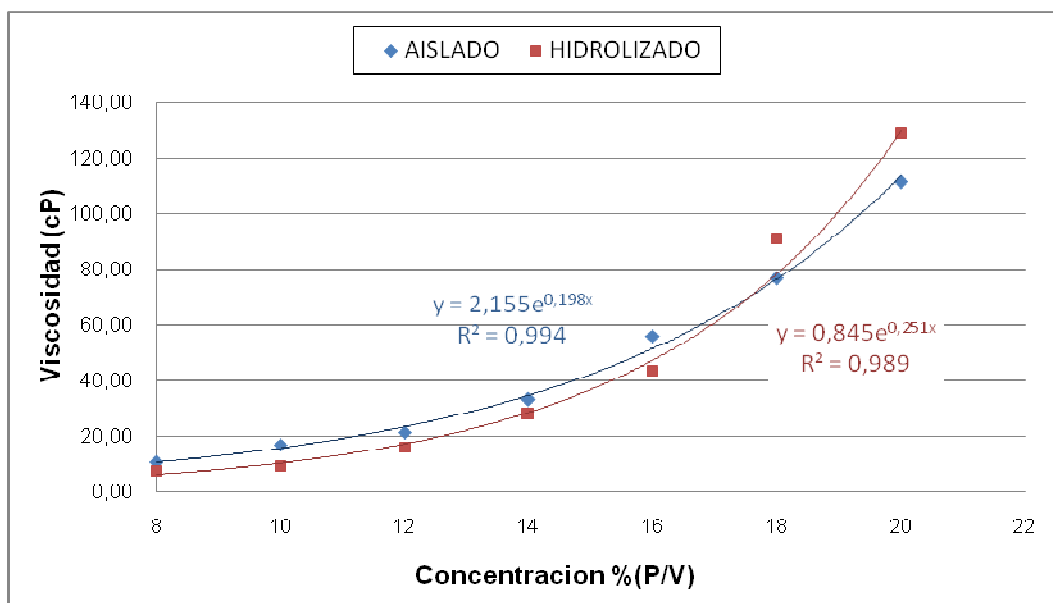


Figura 22. Efecto de la concentración en la viscosidad en el aislado e hidrolizado de la proteína de soya

El hidrolizado mantuvo valores altos de viscosidad, debido a que la hidrólisis produce la ruptura de las moléculas proteicas y aumenta la exposición de los grupos hidrófobos de las proteínas globulares. Una elevada masa molecular debido a las interacciones proteína-proteína y un fuerte porcentaje de aminoácidos hidrófobos favorecen a la formación de las redes compactas, que incrementan el coeficiente de viscosidad de las soluciones proteicas (Nakai, 1983).

Un incremento en la viscosidad se determinó al aumentar los valores de las concentraciones, a temperatura de 20 °C, debido al aumento de las interacciones proteína – proteína. Según Harper y Hall (1976), indicaron que hay un incremento en la viscosidad con relación a la concentración, con un aumento de sólidos como grasa y carbohidratos.

3.4.5.2. Efecto del pH en la viscosidad

El Anova resultó altamente significativo en la viscosidad del aislado e hidrolizado de proteína de soya, a los diferentes niveles de pH analizados. La prueba de significancia de Tuckey (5 %) para cada uno de los casos analizados, determinó que los mayores valores de viscosidad, se obtuvo a los siguientes pH: 10.0^a, 2.0^b, 8.0^c para el aislado y 10.0^a, 8.0^b, para el hidrolizado, como se indica en la Tabla 27, en el Anexo IX.

En la Figura 23, se muestran los cambios de viscosidad en función del pH de proteína aislada e hidrolizada, a una suspensión al 18 % (p/v). La viscosidad del aislado e hidrolizado a diferentes pH presentaron la misma tendencia, con un ligero descenso, en pH 4.0, debido a que valores cercanos al punto isoeléctrico se muestra una disminución al no existir una adecuada hidratación de la proteína y al existir una relación de la absorción de agua con la propiedad de viscosidad (Rha *et al.*, 1986).

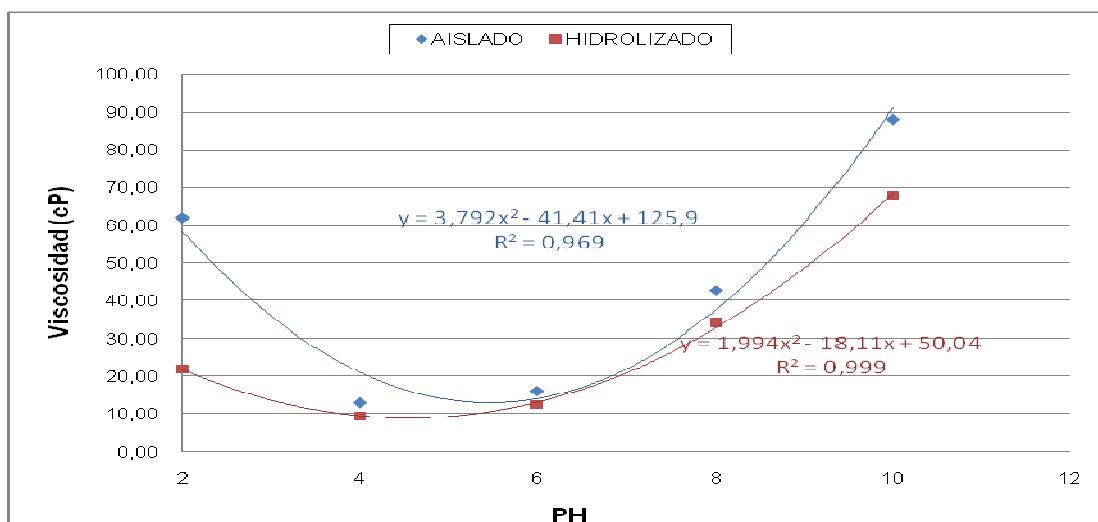


Figura 23. Efecto del PH en la viscosidad en el aislado e hidrolizado de la proteína de soya

El mayor valor de viscosidad se obtuvo a pH 10.0, con 88.04 cP y 67.84 cP para el aislado e hidrolizado respectivamente. En medio alcalino, la viscosidad de la mayoría de las proteínas aumentó, porque las cargas eléctricas negativas

presuponen un desdoblamiento y alargamiento máximo del hidrolizado en este medio.

Los productos proteicos muy solubles dotados de una baja capacidad de absorción de agua y de hinchamiento también presentan una baja viscosidad a pH neutro o a pH isoelectrico. Con esto se confirma la correlación entre viscosidad y solubilidad, que son propiedades funcionales importantes en los sistemas proteicos de los alimentos líquidos (Hermansson, 1986).

3.4.5.3. Efecto de la temperatura en la viscosidad

El Anova resultó altamente significativo en la viscosidad del aislado e hidrolizado de proteína de soya, a las diferentes temperaturas analizadas. La prueba de significancia de Tuckey (5 %) para cada uno de los casos analizados, determinó que los mayores valores de viscosidad, se obtuvo a las siguientes temperaturas (°C): 20^a, 30^b para el aislado y 20^a, 30^b para el hidrolizado, como se indica en la Tabla 28, en el Anexo IX.

En la Figura 24, se presenta la viscosidad del aislado e hidrolizado de soya en función de la temperatura. Se observa que existió una ligera disminución en la viscosidad con el incremento de la temperatura a 40 °C y 50 °C. Las características reológicas, son generalmente dependientes de la temperatura.

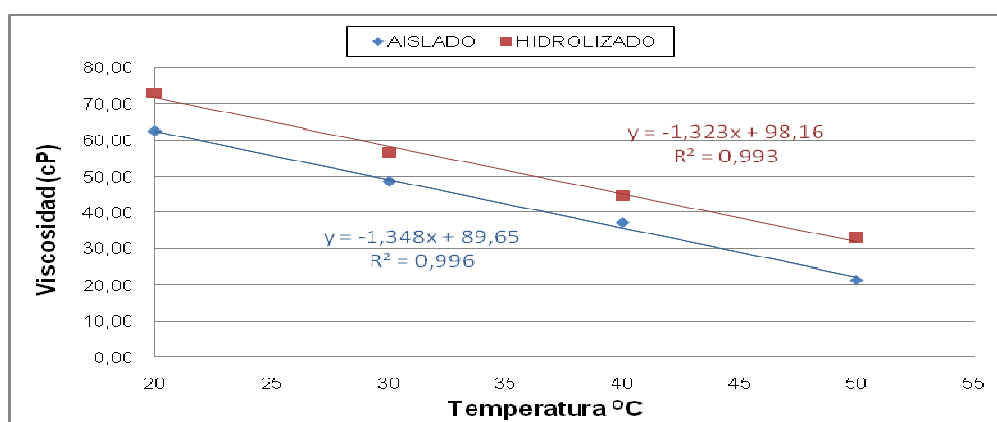


Figura 24. Efecto de la temperatura en la viscosidad en el aislado e hidrolizado de la proteína de soya

A 20 °C se obtuvieron los valores más altos de viscosidad 62.60 cP y 73.01 cP para el aislado e hidrolizado respectivamente. A temperaturas superiores la viscosidad presentó un decrecimiento, los valores más bajos corresponden a 21.46 cP y 31.88 cP, para el aislado e hidrolizado de soya respectivamente, a 50 °C. La desnaturalización contribuye a las características reológicas de la proteína contenida en el sistema.

Los valores bajos de viscosidad a temperaturas mayores de 20 °C, pueden presentarse, debido a que, las proteínas son sensibles a altas temperaturas y a una desnaturalización irreversible, por lo que existe mayor movilidad de los péptidos (Stading *et al.*, 1990).

3.4.6. CAPACIDAD Y ESTABILIDAD DE EMULSIFICACIÓN

Las emulsiones son dispersiones de dos líquidos no miscibles. El agua se presenta como un líquido polar hidrófilo que por lo general es una solución acuosa; mientras que, el aceite es un líquido hidrófobo (Cheftel *et al.*, 1989).

3.4.6.1. Efecto de la concentración en la capacidad de emulsión

El Anova resultó altamente significativo en la capacidad de emulsión del aislado e hidrolizado de proteína de soya, a las diferentes concentraciones analizadas. La prueba de significancia de Tuckey (5 %) para cada uno de los casos analizados, determinó que los mayores valores de capacidad emulsionante, se obtuvo a las siguientes concentraciones (%): 4^a, 6^b, para el aislado y 4^a, 2^b, para el hidrolizado. El aislado e hidrolizado de proteína de soya, presentaron un descenso en la emulsificación con el incremento de la concentración de proteína, como se indica en la Tabla 29, del Anexo X.

En la Figura 25, se presenta el efecto de la concentración en la capacidad de formación de emulsión a pH 4.0 del aislado e hidrolizado proteico de soya. Los datos experimentales reportaron que la capacidad de emulsión es mayor en el hidrolizado de soya con respecto al aislado, debido a que, mayor concentración

de proteína existe aumento de los grupos hidrofílicos y no favorecen a la interacción del aceite con los grupos hidrofóbicos, presentes en la solución (Tomberg, 1988).

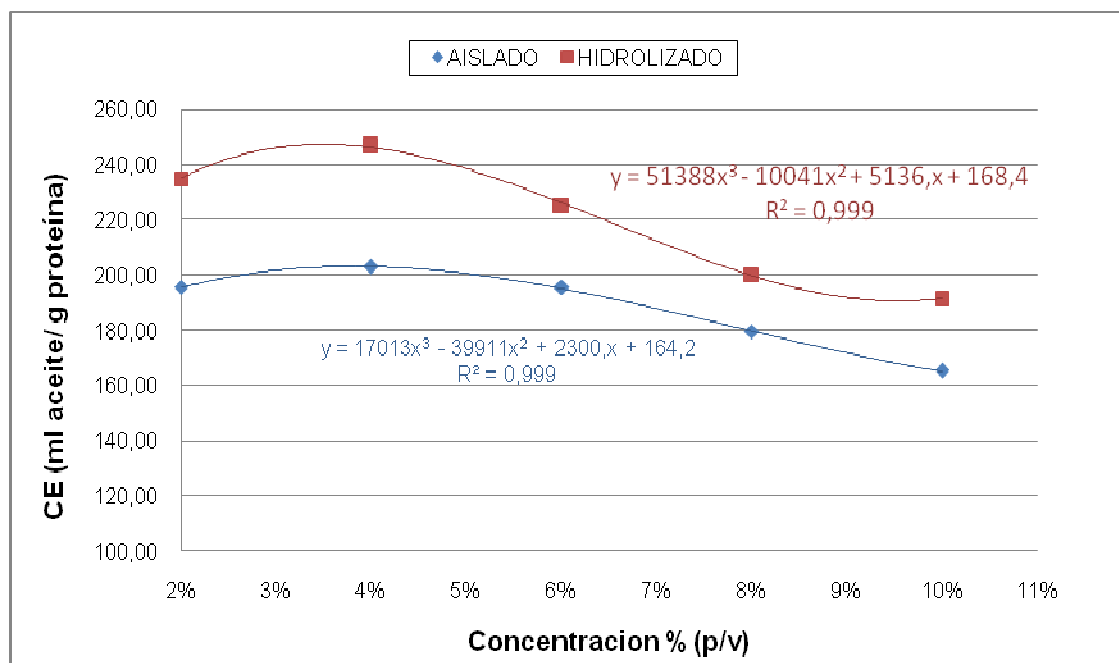


Figura 25. Efecto de la concentración en la capacidad emulsionante en el aislado e hidrolizado de la proteína de soya

En tanto que en el aislado a mayor concentración el desdoblamiento de la proteína es más difícil, lo que dificulta la interacción proteína – lípido, que no favorece a la formación de la películas interfaciales (Mangino, 1984).

La capacidad máxima de emulsión se registró a una concentración del 4 %, con valores de 203.00 y 246.67 (mL aceite/ g proteína), mientras que a una concentración del 10 % se obtuvieron valores más bajos de 165.33 y 191.67 (mL aceite / g proteína), para el aislado e hidrolizado respectivamente.

En los dos casos analizados se observó que a concentraciones mayores al 4 %, tuvieron un efecto negativo en la CE, una mayor cantidad de aceite separado sobre la carga superficial de las gotitas de aceite, lo que afecta la estabilidad de las emulsiones. Cuanto menos hidrófoba es una proteína, más baja es la

concentración proteica en la interfase y mayor la tensión interfacial y por lo tanto la emulsión es menos estable.

3.4.6.2. Efecto del PH en la capacidad y estabilidad de la emulsión

El Anova resultó altamente significativo en la capacidad de emulsión del aislado e hidrolizado de proteína de soya, a los diferentes niveles de pH analizados. La prueba de significancia de Tuckey (5 %) para cada uno de los casos analizados, determinó que los mayores valores de capacidad emulsionante, se obtuvo a los siguientes pH: 10.0^a, 8.0^b para el aislado y 10.0^a, 8.0^a para el hidrolizado, como se indica en la Tabla 30, del Anexo X.

En la Figura 26, se presenta el efecto del pH en la capacidad de formación de emulsión (CE) en el aislado e hidrolizado de soya, en suspensiones al 2 %. Se observa que la tendencia de los valores obtenidos en el aislado e hidrolizado de soya son similares, a todas las escalas de pH 2.0 a pH 10.0.

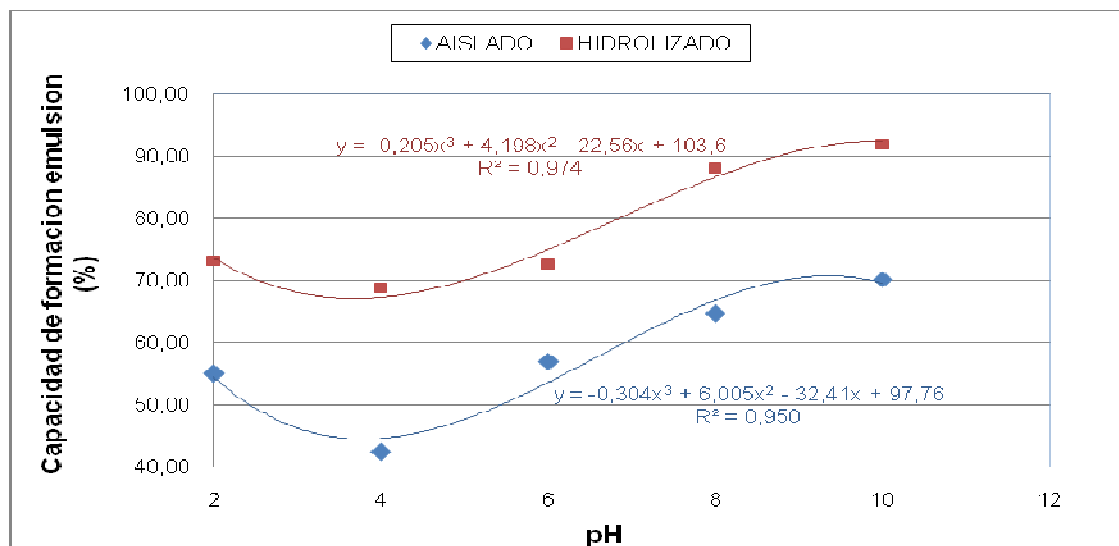


Figura 26. Efecto del pH en la capacidad emulsionante en el aislado e hidrolizado de la proteína de soya

En general, se observó mejores propiedades emulsificantes a pH alejados del punto isoeléctrico. Con relación a la capacidad de emulsión, el hidrolizado es mayor que el del aislado y presentó incrementos del 18.14 %, 23.54 % y 21.76 %

a pH 2.0, 8.0 y 10.0 respectivamente, debido a que las propiedades emulsificantes tienen gran relación con la hidrofobicidad y con la solubilidad de las proteínas.

La menor capacidad emulsionante se registró a pH 4.0, debido a que, la solubilidad a este pH es mínima y reduce la cantidad de péptidos en esta interface. En las proteínas globulares, se dice generalmente que en su estado nativo, se doblan y ocultan sus aminoácidos hidrofóbicos en el interior del glóbulo, lo cual reduce al mínimo la energía libre y esto da lugar probablemente a la exposición de los grupos hidrofílicos en la proteína y de tal manera existe un aumento de las características que permiten una buena emulsión (Nakai, 1983).

Además, en el punto isoelectrico las proteínas adoptan estructuras compactas con una fuerte viscoelasticidad, lo cual puede impedir el desdoble y la absorción en la interfase lo que no favorece la formación de emulsiones, ya sea por estabilizar una película proteica adsorbida, frente a la deformación de superficie. Las interacciones hidrófobas entre lípidos y proteínas se acumulan en el PI de la proteínas, causa por la cual la proteína de soya presenta un mejor comportamiento de emulsión en puntos alejados del PI (Cheftel *et al.*, 1989).

En la Figura 27, se muestran las curvas de estabilidad de emulsión en función al pH y en la Tabla 31 en el Anexo X, se presenta los datos experimentales.

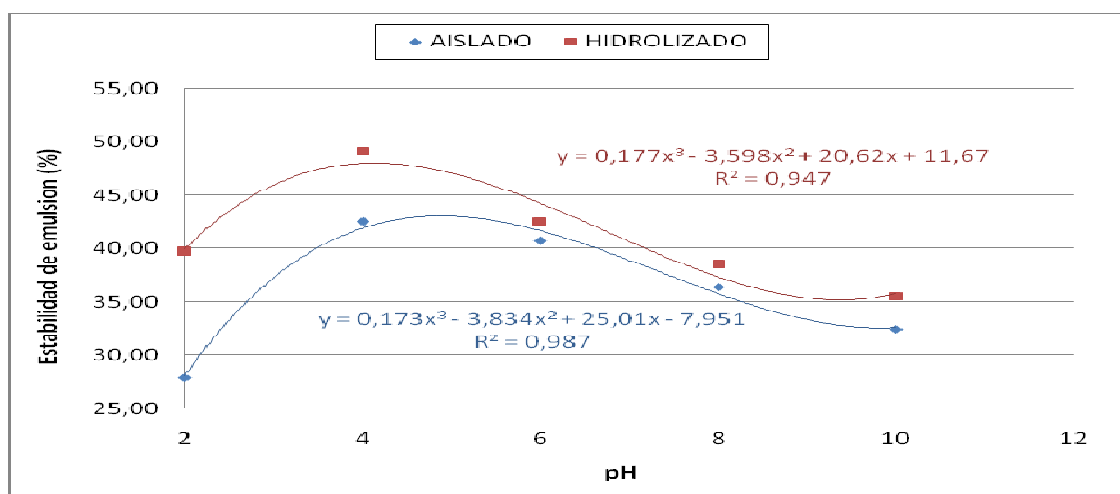


Figura 27. Estabilidad de emulsión en el aislado e hidrolizado de soya en función del pH

Se obtuvo una mayor cantidad de aceite separado a pH 4.0 con un porcentaje del 42.50 % para el aislado y 68.95 % para el hidrolizado, debido a que a este pH la solubilidad en agua es baja y la separación de la capa acuosa de la de aceite es mayor, por la presencia de grupos hidrofóbicos que impiden una buena interacción lípido – proteína (Voutsinas *et al.*, 1983).

Los valores más estables fueron del aislado proteico, debido al menor volumen de aceite separado en comparación con el hidrolizado, puesto que tiene un mayor espesor de las películas adsorbidas que son las que se oponen mecánicamente a la coalescencia de las gotitas y además posee una débil tensión superficial entre las dos fases (Cheftel *et al.*, 1989).

El pH influye significativamente en la estabilidad de la emulsión, tanto en el aislado como el hidrolizado de proteína de soya. La relación de pH y estabilidad de la emulsión es una relación remarcable similar a la relación de pH y solubilidad de proteína, que influye en la capacidad y estabilidad de emulsión. (Damodaran, 1994).

3.4.7. CAPACIDAD Y ESTABILIDAD DE ESPUMA

Para la formación de espuma la proteína debe ser soluble en agua y flexible para formar una película cohesiva en la interface aire – agua.

3.4.7.1. Efecto de la concentración en la capacidad y estabilidad de la espuma

El Anova resultó altamente significativo en la capacidad de formación de espuma del aislado e hidrolizado de proteína de soya, a las diferentes concentraciones analizadas. La prueba de significancia de Tuckey (5 %) para cada uno de los casos analizados, determinó que los mayores valores de formación de espuma, se obtuvo a las siguientes concentraciones (%): 10^a, 8^b para el aislado y 10^a, 8^b para el hidrolizado, como se presenta en la Tabla 32, del Anexo XI.

En la Figura 28, se presenta el incremento del volumen de espuma en función de la concentración en el aislado e hidrolizado de proteína de soya. El volumen es directamente proporcional al incremento de la concentración, con una tendencia lineal creciente.

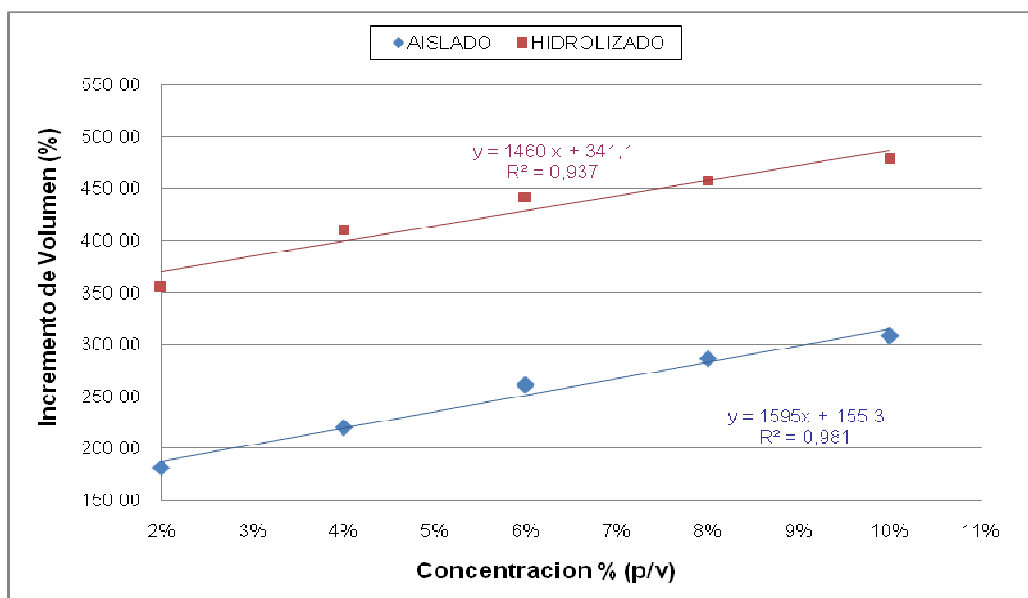


Figura 28. Efecto de la concentración sobre la capacidad de formación de espuma del aislado e hidrolizado de soya

El aislado presentó un incremento de espuma del 142.67 % registrado a concentraciones del 2 % al 10 %, debido a que, las proteínas globulares producen películas adsorbentes solidas muy estables, con excelentes propiedades reológicas superficiales y con una buena difusión de las proteínas solubles hacia la interface aire – agua donde se desdoblán, se concentran y se extienden rápidamente para así rebajar la tensión superficial.

El incremento de volumen de espuma en el hidrolizado valorado entre lo obtenido del 2 % al 10 % de concentración fue del 120.88 %, influenciado por la partición de la proteína de soya hidrolizada lo que mejora las propiedades espumantes, debido a que, producen un mejor desdoblamiento, concentración y tamaño de la burbuja, que permite un aumento el espesor de la película adsorbida, gracias al incremento de las interacciones proteína – proteína (Mangino, 1984).

En la Figura 29, se presenta el efecto de la concentración en la estabilidad de espuma en el aislado. El colapso de la espuma con relación al tiempo de estabilidad presenta una menor estabilidad a concentraciones del 2 % y 4 %, en tanto que a concentraciones superiores presentan mejor estabilidad y tuvieron un colapso total a las 8.0 h. Los resultados de la estabilidad de espuma se presentan, en la Tabla 33 en el Anexo XI.

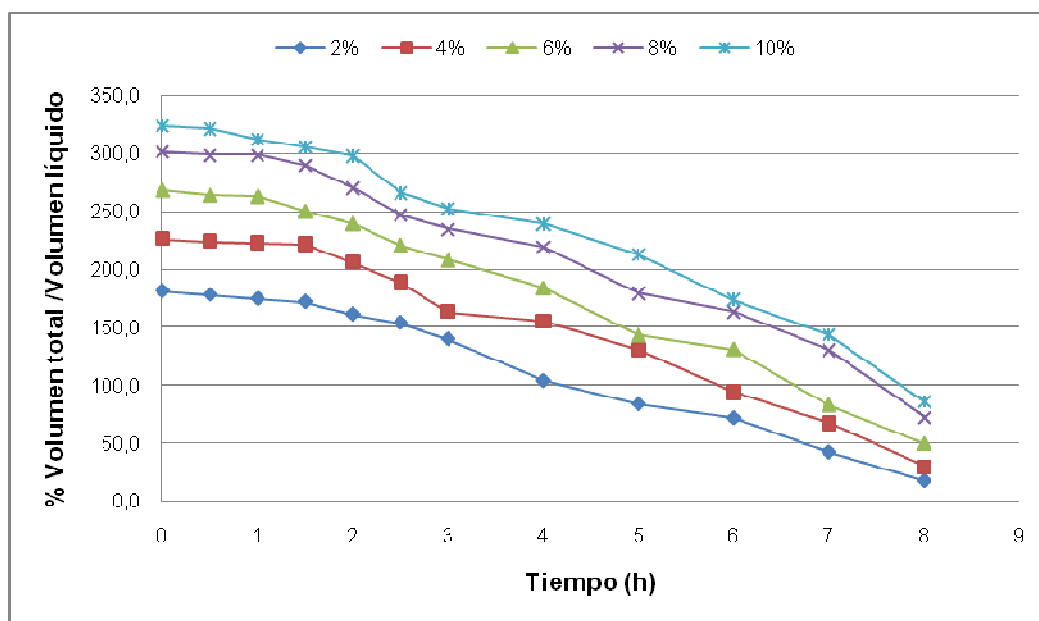


Figura 29. Efecto de la concentración sobre la estabilidad de la espuma en el aislado proteico de soya

En la Figura 30, se presenta la estabilidad de espuma del hidrolizado enzimático de soya con un tiempo de colapso total de 4.5 h, y se observó que las más estables fueron las de concentraciones 8 % y 10 %. El aislado proteico a diferentes concentraciones registró mejores valores de estabilidad que los hidrolizados, con una relación de tiempo 2:1, debido a que, los hidrolizados presentan películas adsorbidas muy finas, lo que permite disminuir la tensión superficial y producen espumas más inestables, de poca resistencia y consistencia (Kinsella, 1979).

Los resultados de la estabilidad de espuma, se presentan en la Tabla 34, en el Anexo XI.

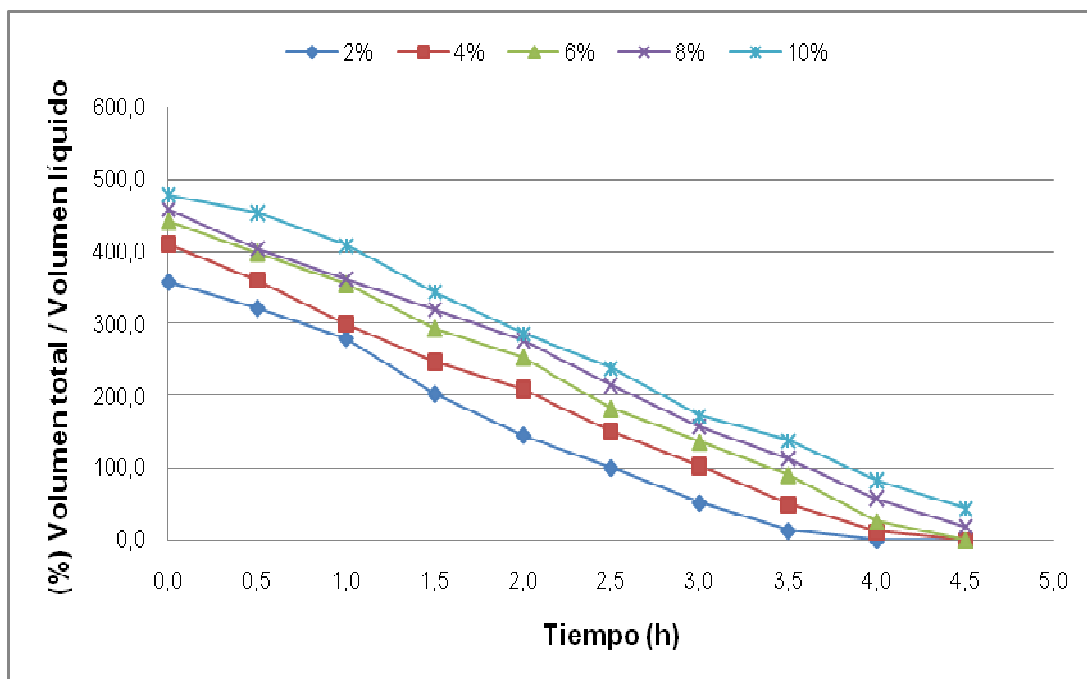


Figura 30. Efecto de la concentración sobre la estabilidad de la espuma en el hidrolizado enzimático de soya

3.4.7.2. Efecto del pH en la capacidad y estabilidad de la espuma

El Anova resultó altamente significativo en la capacidad de formación de espuma del aislado e hidrolizado de proteína de soya, a los diferentes niveles de pH analizados. La prueba de significancia de Tuckey (5 %) para cada uno de los casos analizados, determinó que los mayores valores de formación de espuma, se obtuvo a las siguientes pH: 10.0^a, 8.0^b para el aislado y 10.0^a, 8.0^b para el hidrolizado, con una tendencia creciente en función del pH, como se indica en la Tabla 35, del Anexo XII.

La Figura 31, presenta la capacidad de formación de espuma, que fue determinada en suspensiones al 2 % para el aislado e hidrolizado respectivamente, ajustados a pH 2.0, 4.0, 6.0, 8.0 y 10.0. El incremento de volumen fue directamente proporcional con el incremento del pH, en los dos productos proteicos.

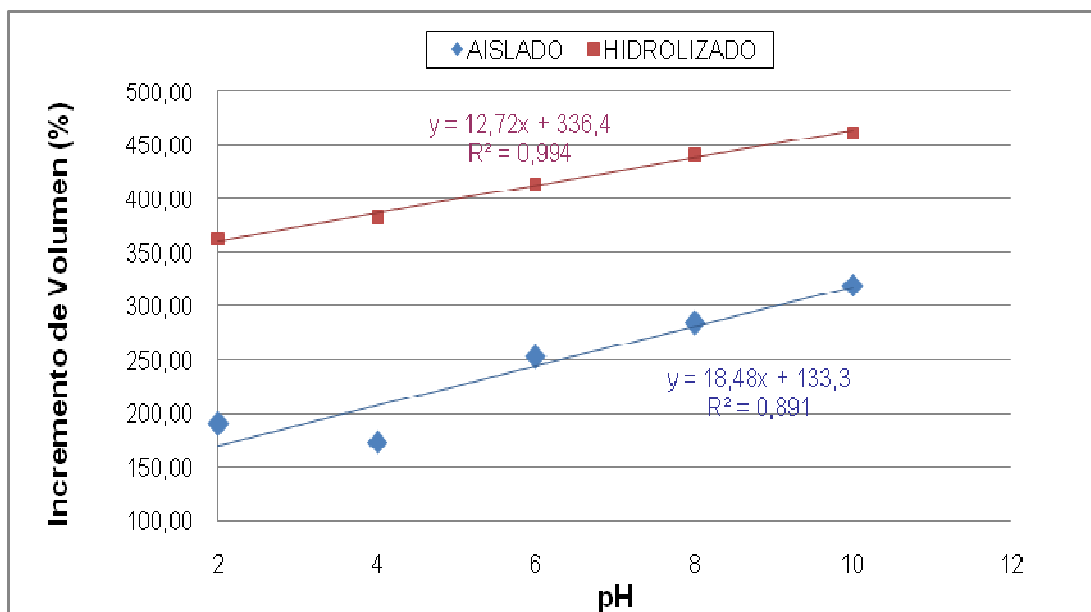


Figura 31. Efecto del pH en la capacidad de formación de espuma en el aislado e hidrolizado de la proteína de soja

En el aislado se presentó un ligero incremento a pH 6.0 y pH 8.0 con un porcentaje del 252.94 %, y del 284.62 % respectivamente y una disminución considerable a pH 4.0 que registró el 173.3 %, debido a que las propiedades espumantes tienen gran relación con la solubilidad, y de esta depende para que en la proteína se presente la interacción aire – agua y conlleve a una buena formación de la propiedad espumante. Por lo general el pH debe estar por encima pero cercano al punto isoeléctrico (Liu, 1999).

En el hidrolizado enzimático de soja, se puede analizar un incremento del volumen de espuma y reportó valores de 413.73 % y 441.67 % a pH 6.0 y 8.0 respectivamente, los resultados registrados se deben a la buena y estable solubilidad que contribuye a mejorar las interacciones proteínas - agua. Además la baja cantidad de lípidos presentes 0.20 %, contribuyen a mejorar las propiedades espumantes que cuando están contaminadas por lípidos. Parece que los lípidos tensoactivos y polares, impiden una conformación favorable de las películas de proteínas adsorbidas al colocarse en la interface aire – agua (Cheftel *et al.*, 1989).

En la Figura 32, se presenta el efecto del pH en la estabilidad de espuma del aislado de soja. En las curvas de estabilidad se puede observar que las espumas

a pH 2.0, 6.0, 8.0 y 10.0 presentaron mayor estabilidad y tuvieron un tiempo de colapso de 10 h, por lo que son bien estables y de buena consistencia. En cambio a pH 4.0, las espumas fueron más inestables y tuvieron un tiempo de colapso de 6 h. Esto puede deberse a que, en el punto isoeléctrico se disminuyeron el espesor y la rigidez de las proteínas adsorbidas en la interface aire – agua, a la baja solubilidad. La difusión del gas de las burbujas pequeñas hacia las burbujas grandes es más rápida, difusión que es posible por la disolución del gas en la fase acuosa (Cheftel *et al.*, 1989). Los resultados de la estabilidad de espuma, se presentan en la Tabla 36, en el Anexo XII.

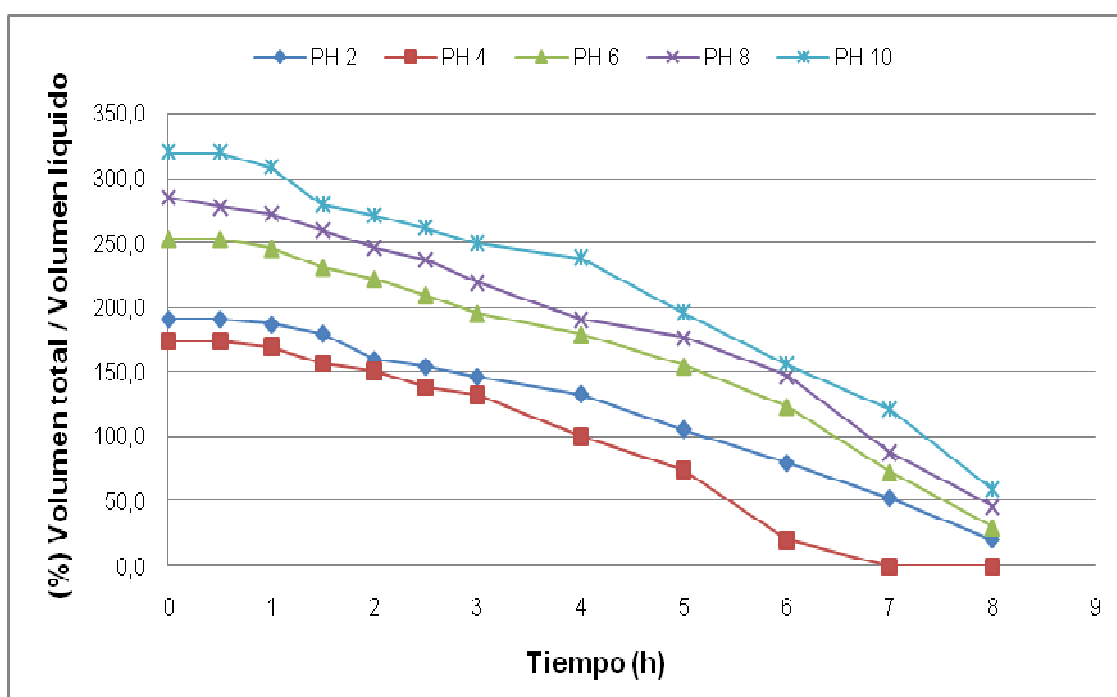
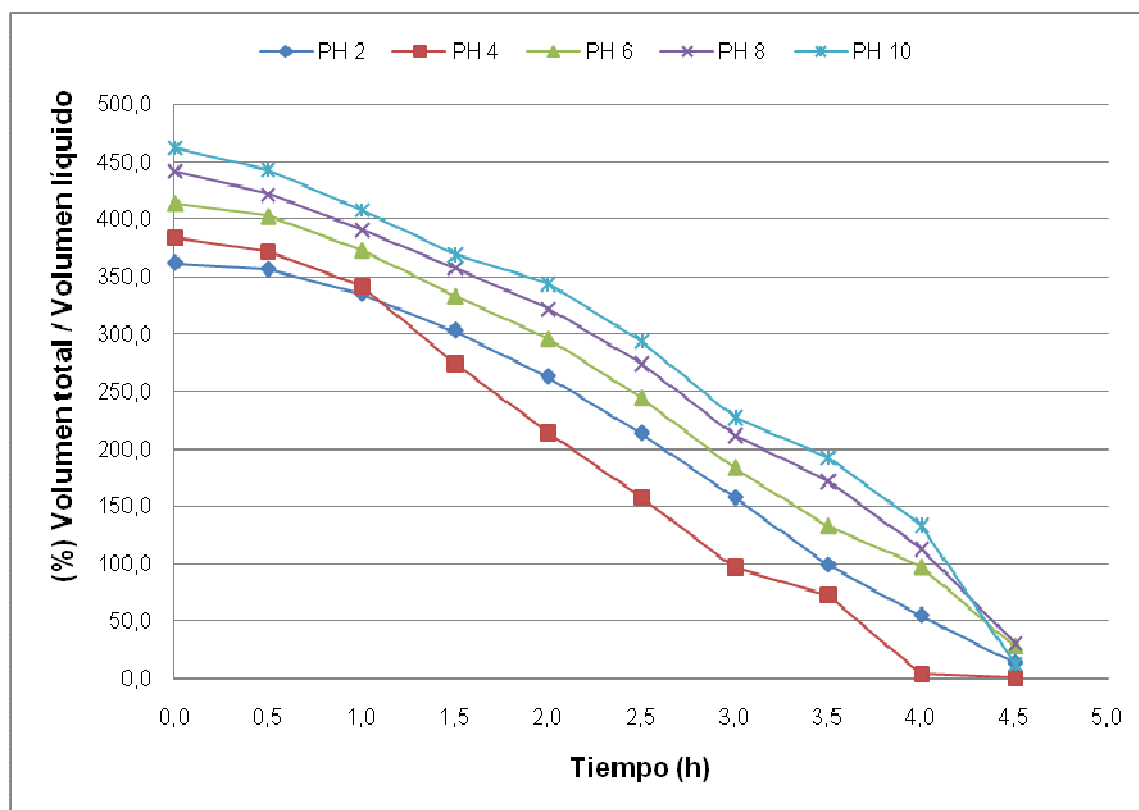


Figura 32. Efecto del pH sobre la estabilidad de espuma del aislado proteico de soya

La Figura 33, muestra el efecto del pH sobre la estabilidad de espuma en el hidrolizado de soya. Las espumas más estables se obtuvieron a partir de suspensiones de hidrolizado de pH 6.0, 8.0 y 10.0 que colapsaron en tiempos superiores a 4.5 h, mientras que a pH 4.0 presentaron un tiempo de colapso de 4 h, debido a que las cargas se hallan en equilibrio y no permiten interacciones entre proteína – agua – aire. En comparación con el aislado el tiempo de colapso y la resistencia, de las espumas del hidrolizado fueron inferiores y permitieron que las películas adsorbidas en la interfase aire - agua, sean más finas y permitan

disminuir la estabilidad de las espumas (Kinsella, 1979). Los resultados de la estabilidad de espuma, se presentan en la Tabla 37, en el Anexo XII.



33. Efecto del pH sobre la estabilidad de espuma del hidrolizado enzimático de soya

3.4.7.3. Efecto iónico en la capacidad y estabilidad de espuma

El Anova resultó altamente significativo en la capacidad de formación de espuma del aislado e hidrolizado de proteína de soya, a las diferentes concentraciones de NaCl analizadas. La prueba de significancia de Tuckey (5 %) para cada uno de los casos analizados, determinó que los mayores valores de formación de espuma, se obtuvo a las siguientes concentraciones de NaCl (%): 0.60^a, 0.80^b para el aislado y 0.80^a, para el hidrolizado, a mayores concentraciones registraron un descenso en la variable de capacidad de formación de espuma, como se indica en la Tabla 38, del Anexo XIII.

En la Figura 34, se presenta el incremento de volumen a diferentes concentraciones para el aislado e hidrolizado de soya. A una concentración del

0.6 % de NaCl se presentaron los valores más altos de incremento de volumen con un 215.69 % para el aislado y 413.73 % para el hidrolizado. En tanto que a concentraciones mayores a 0.6% de NaCl la propiedad desciende en volumen, se obtuvo valores bajos de 147.71 % y 292.16 % para el aislado e hidrolizado de soya respectivamente, se debe a que las sales influyen en la solubilidad, viscosidad, desdoblamiento y agregación de las proteínas, lo cual afecta las propiedades espumantes. A menudo, el cloruro de sodio aumenta la pérdida de líquidos y reduce la estabilidad de las espumas (Cheftel *et al.*, 1989).

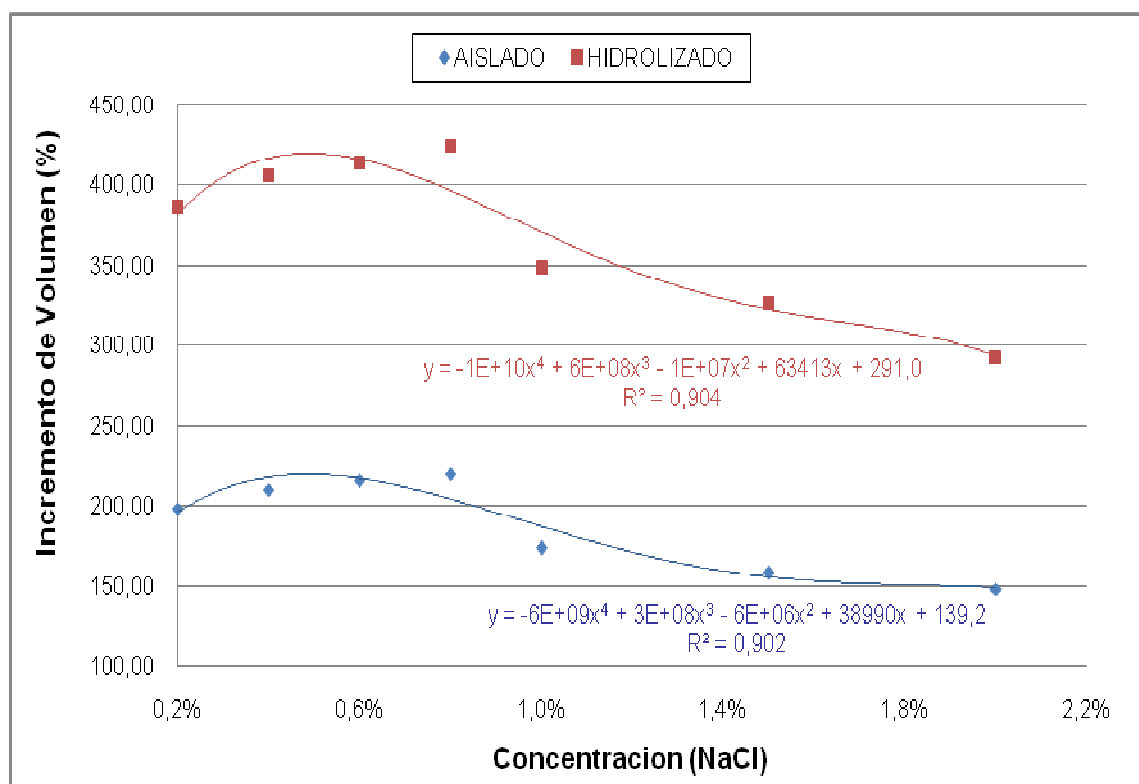


Figura 34. Efecto iónico [NaCl] en la capacidad de formación de espuma en el aislado e hidrolizado de la proteína de soya

La estabilidad de espumas con la adición de cloruro de sodio no alteró significativamente en el aislado de soya, las espumas más estables fueron las de concentraciones menores a 0.6 %, con un tiempo de colapso de 6 h, mientras que las de valores superiores presentaron menor estabilidad y un tiempo de colapso de 8 h, como indica la Figura 35. Los resultados de la estabilidad se presentan, en la Tabla 39, en el Anexo XIII.

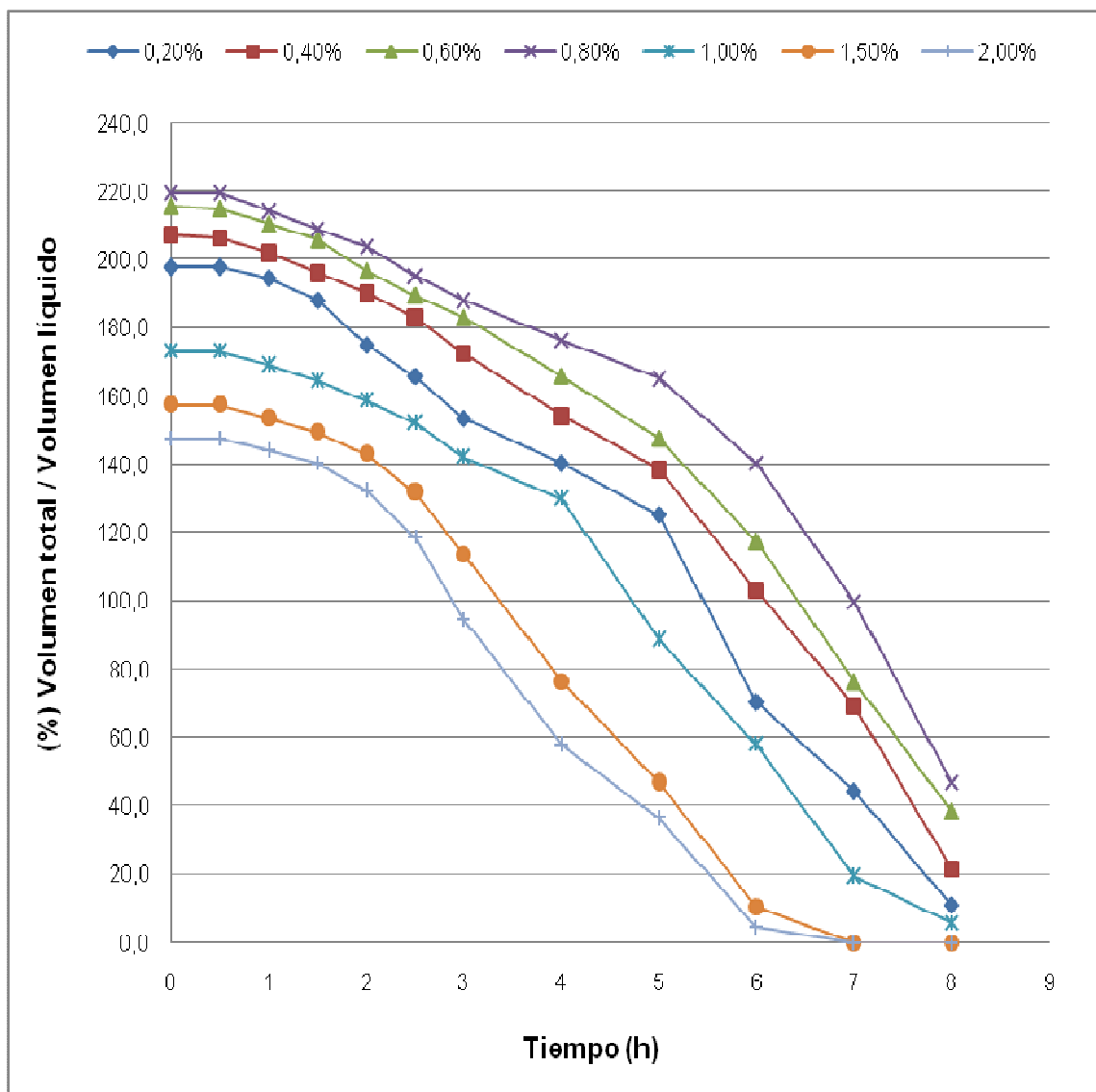


Figura 35. Efecto iónico [NaCl] sobre la estabilidad de espuma del aislado proteico de soya

En la Figura 36, se presenta la estabilidad de espuma para el hidrolizado, lo cual indica que los valores más estables fueron a concentraciones de 0.2 %, 0.6 % y 0.8 %, mientras que a las demás concentraciones presentaron mayor inestabilidad, con un tiempo de colapso de 4 h. La adición de cloruro de sodio redujo la estabilidad de las espumas, esto se debe probablemente, a un descenso de la viscosidad de la solución proteica. Los iones Ca^{2+} pueden mejorar la estabilidad al formar uniones entre los grupos carboxílicos de la proteína (Cheftel *et al.*, 1989). Los resultados de la estabilidad de espuma se presentan, en la Tabla 40, en el Anexo XIII.

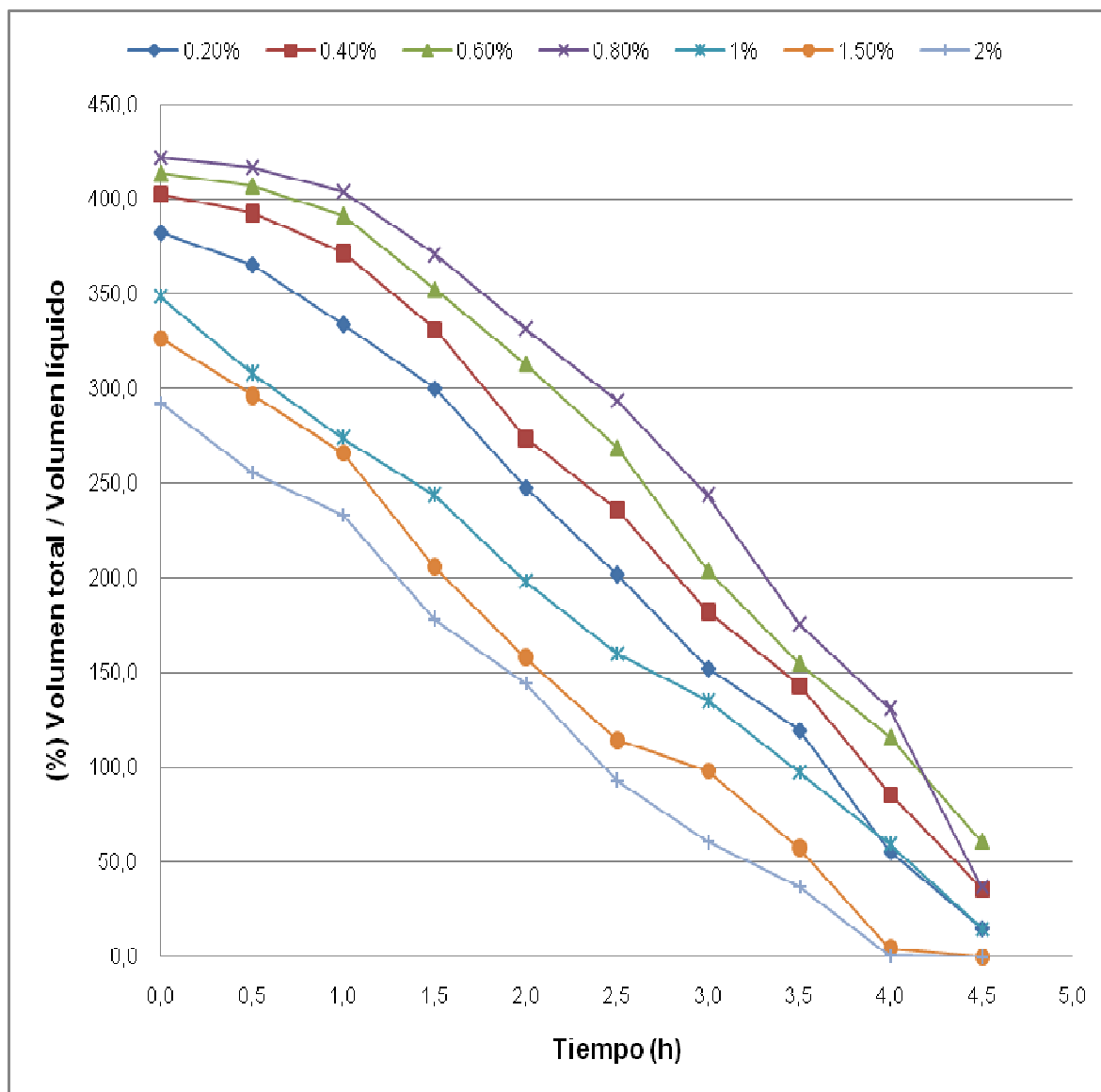


Figura 36. Efecto iónico [NaCl] sobre la estabilidad de espuma del hidrolizado enzimático de soya

En todos los casos el hidrolizado presentó menor estabilidad en comparación al aislado, debido a que en el hidrolizado la película adsorbida fue muy fina y permitió rápidamente la rotura de la laminilla líquida que separa las burbujas del gas. Esta rotura provocó un aumento del tamaño de las burbujas por coalescencia y condujo, en definitiva, a un derrumbe de la espuma. Existe una interdependencia entre la pérdida de líquidos y rotura, debido a que se aumenta la salida de líquidos y esto reduce el espesor y la resistencia de las laminillas (Cheftel *et al.*, 1989).

3.5. DETERMINACIÓN DE LOS USOS DEL AISLADO E HIDROLIZADO DE PROTEÍNA DE SOYA SEGÚN SUS PROPIEDADES FUNCIONALES PARA APLICAR EN ALIMENTOS

Las proteínas de alimentos de origen animal como las de la leche, huevo y carne son proteínas de buena calidad, lamentablemente son productos caros. A las proteínas de alimentos de origen vegetal se les considera de menor calidad por ser deficientes y limitantes en aminoácidos indispensables, pero la soya, aún cuando es de origen vegetal, contiene proteínas completas de buena calidad.

El fríjol de soya puede ser utilizado directamente como materia prima para la elaboración de una gran variedad de productos 100 % soya así como la bebida de soya o de leche, tofú o queso, helados a base de soya y otros más, no obstante su mayor potencial de consumo en la nutrición humana se deriva a partir de sus productos. Los aislados e hidrolizados son productos ricos en proteínas, necesarios para alimentos infantiles (Lusas, 1985).

Con algunas excepciones obvias, como pueden ser fórmulas infantiles, barquillos, cereales para desayunos y otros productos alimenticios especiales, actualmente los productos a base de proteína de soya se utilizan principalmente gracias a sus características de funcionalidad, las cuales son de importancia para el fabricante de alimentos convencionales en lo que se refiere a su control de procesos y en el diseño de alimentos de fácil preparación (Badui, 2006).

En la Tabla 13, se presenta las distintas propiedades funcionales y su aplicación en distintos alimentos.

Algunas características físicas importantes en los alimentos son la apariencia, tamaño, forma, textura, consistencia, viscosidad y palatabilidad, que determinan su modo de uso en los sistemas de alimentos

Tabla 13. Propiedades funcionales de productos de proteína de soya en algunos alimentos

Propiedad funcional	Forma de la proteína	Sistema utilizado
Emulsificación		
Formación	F,C,I,H	Salchichas, embutidos, salami, panes, pasteles y sopas
Estabilización	F,C,I,H	Productos batidos con crema chantilly, postres congelados, embutidos en general
Absorción de grasa		
Promoción	F,C,I	Salchichas, embutidos y hamburguesas
Prevención	F,I	Donas y bollos
Absorción de agua		
Absorción	F,C	Pasteles, panes y pastas
Retención	F,C	Pan y pastels
Textura		
Viscosidad	F,C,I	Sopas y salsas
Gelificación	C,I	Sustitutos de carne molida
Formación de fibras	I	Sustitutos de carne
Formación de masas	F,C,I	Productos de panificación
Formación de películas	I	Salchichas y salami
Adhesion	C,I	Embutidos, carnes frias
Cohesion	F,I	Productos horneados, macarrones y sustitutos de carne
Elasticidad	I	Productos horneados y sustitutos de carne
Control de color		
Blanqueado	F	Pan
Oscurecimiento	F	Pan y derivados
Solubilidad	F,C,I,H	Bebidas fortificadas
Aeración	I	Productos batidos y confituras

Fuente: Kinsella, 1979

F= harina de soya, C= concentrado, I= aislado, H= hidrolizado

3.5.1. SOLUBILIDAD

Las interacciones hidrofóbicas, promueven las interacciones proteína – proteína que son las responsables de disminuir la solubilidad, en cambio las interacciones

iónicas promueven la interacción proteína – agua, lo cual favorece al aumento de la solubilidad (Badui, 2006).

Si bien, la solubilidad reviste gran importancia, es difícil predecir el desempeño de una proteína en una aplicación que únicamente se base en la solubilidad; por lo cual, deberán considerarse otros criterios, tales como: la capacidad de emulsificación, de formación de gel, la absorción de agua y grasa, la viscosidad, como se indica en la Tabla 14.

Tabla 14. Requerimientos de solubilidad de la proteína de soya para aplicaciones alimenticias seleccionadas

Aplicación	Índice de solubilidad
Emulsificación, espuma y gelificación	>90
Absorción de agua en productos de panificación	60
Sopas, embutidos, salsas, alimentos infantiles	30
Galletas, bebidas cereales	15

Fuente: Wolf, 1970

Los principales factores que determinan el uso de los hidrolizados proteicos y son el valor nutricional, sabor, antigenicidad, solubilidad y funcionalidad (Lahl y Braun, 1994).

Los valores de solubilidad en los 2 casos analizados fueron altos, cerca del 90 %, por lo que puede ser utilizada en diferentes tipos de alimentos como, aditivos en bebidas energéticas: zumos, formulaciones infantiles.

Los hidrolizados de soya también han sido utilizados en fórmulas nutricionales especializadas para adultos y en fórmulas infantiles que están constituidas fundamentalmente por leche, lactosuero, proteína de soya, debido a que se caracterizan por presentar una reducción o eliminación de la actividad antigénica (American Academy of Pediatrics Committee on Nutrition, 1990).

La proteína de soya debido a su alto valor proteico y solubilidad se puede utilizar como ingrediente funcional en productos lácteos y no lácteos, incluida la crema

batida, helados, cafés, leche e imitación de quesos, postres congelados y yogures (Kolar *et al.*, 1985).

Básicamente, la leche de soya es una extracción del agua de soya, asemejándose a la leche de vaca en aspecto y composición. En general, la leche de soya tiene sólidos totales en 8.0 – 10.0 %, la proteína 3.6 %, grasa 2.0 %, carbohidratos 2.9 % y ceniza 0.5 %. Contiene las cantidades más altas de proteína, hierro, ácidos grasos no saturados, y niacina, y las cantidades más bajas en grasa, carbohidratos y calcio, libre de lactosa. Es especialmente necesaria para los infantes y los niños que tienen una necesidad particular de la proteína, y requieren una dieta estricta o exhiben reacciones alérgicas a la leche común (Kwok y Niranjana, 1995).

3.5.2. CAPACIDAD DE ABSORCIÓN DE AGUA

La capacidad de absorción depende de las interacciones proteína – agua y se relaciona con la composición de aminoácidos, si hay una mayor concentración de aminoácidos cargados la capacidad de hidratación es mayor (Badui, 2006).

El aislado e hidrolizado de proteína de soya presentaron una gran capacidad de retención de agua, propiedad fundamental para la elaboración de distintos alimentos que dependen del pH requerido en cada uno de los sistemas de alimentos.

La cantidad de agua limitada generalmente va de rangos de 30 a 50 g / 100 g de proteína. El aislado de proteína de soya posee la mayor cantidad de absorción de agua (alrededor 35 g / 100 g) porque tiene el valor más alto de proteína en relación con los otros productos (Kinsella, 1985).

Los productos proteicos de soya pueden ser utilizados para la elaboración de pan, la absorción de agua se incrementa en 1.0 a 1.5 % por cada 100 g de aislado añadido, además mejora el color de la costra del pan y esto es atribuido a la reacción del encafecimiento de Maillard entre la proteína de soya y la reducción de azúcares (Wijeratne, 2005).

En la Tabla 15, se muestran los diferentes productos proteicos y su capacidad de retención de agua, y se observa el gran poder de absorción de agua de los aislados proteicos, por lo que es necesario ofrecer mezclas proteicas, que ayuden a obtener un mejor producto rico en proteínas y sin alterar sus características organolépticas.

Tabla 15. Capacidad de absorción - retención de agua para diversas proteínas

Proteína	Capacidad de absorción – retención de agua (g de agua por g de muestra inicial) a temperatura ambiente	
	Medida en presencia de un exceso de agua	Medida en presencia de una pequeña cantidad de agua (a saturación)
Concentrado proteico de guisantes	1.05	1.31
Concentrado proteico de soya (Promosoy)	3.10	3.00
Aislado proteico de soya (Promine D)	3.50	3.85
Aislado proteico de soya (Supro 620)	6.70	5.50
Caseinato de sodio	0	2.33
Clara de huevo	1.30	0.67
Concentrado proteico de lactosuero	0	0.97

Fuente: Quinn, 1979

El uso de la harina de soya en pan y panes dulces fue inicialmente un potencial para completar el valor nutritivo de los productos de trigo debido a que la proteína de soya contiene altos niveles de lisina. Además las propiedades de formación de espuma y retención de agua de la proteína de soya ayudan a mejorar y mantener la humedad y suavidad del producto. La absorción de humedad en el pan aumenta del 4.0 – 5.0 % por cada 1.0 % de aislado de soya presente en la mezcla (Kolar *et al.*, 1985).

Los aislados de soya se pueden usar principalmente para mejorar la textura e incrementar el contenido proteico de los productos cárnicos. Estos incluyen productos emulsificados, carne molida, reestructurada, troceada, productos de músculo completo, análogos, productos de pollo y de origen marino. La harina y

concentrados de soya se usan como extensores de carne picada. Los concentrados de soya se usan ampliamente en salchichas. El aislado e hidrolizado de soya también se utilizan en la carne molida, albóndigas, salchichas para mejorar la textura y calidad global, y en las salmueras para los productos inyectados como el jamón, para retener humedad y mantener la textura. Entre otros su mayor aplicación son los análogos de carne. La proteína aislada de soya es una forma altamente refinada o pura de proteína de soya con un contenido proteico mínimo del 90 % sobre una base libre de humedad. (Liu, 1999).

3.5.3. CAPACIDAD DE ABSORCIÓN DE ACEITE

Los productos proteicos a partir de la proteína de soya son muy utilizados en la industria de alimentos, en especial por su interacción con las grasas. En algunos productos cárnicos desmenuzados, las proteínas de soya promueven la absorción y retención de grasa, por lo tanto se disminuyen las pérdidas durante la cocción, y se mantiene la estabilidad.

En el aislado e hidrolizado de soya se obtuvo valores altos de absorción de aceite y permiten el uso en la fabricación de salchichas, jamones, embutidos cocidos enriquecidos en proteína, sin alterar sus características organolépticas.

En productos de panificación como donas y panqueques, la adición de harina de soya previene la absorción excesiva de grasa. Se ha demostrado que la absorción de grasa en donas durante la fritura se ha reducido en un 60 % cuando se ha utilizado productos de proteína de soya. Además la proteína de soya se desnaturaliza durante la operación de fritura y forma una barrera protectora en la superficie que limita la migración del aceite frito (Wijeratne, 2005).

3.5.4. GELIFICACIÓN

Los geles de proteína de soya fueron preparados a partir de calentado de solución de proteína, lo que induce a una desnaturalización que puede ser considerado a un estado "progel", y cuando se enfría a temperatura de refrigeración facilita la

formación de uniones estables, que permiten generar geles más consistentes. (Badui, 2006).

En el aislado de proteína de soya, se produjo la formación de geles a menor concentración que en el hidrolizado a 10 % y 16 % respectivamente y fueron geles consistentes y de buena apariencia.

La proteína de soya presenta gran capacidad para formar geles a pequeñas concentraciones, por lo que dicha propiedad puede ser explotada para producir alimentos con características estructurales y de diversas texturas.

La propiedad de gelificación puede ser de gran ayuda en los productos lácteos para la producción de queso enriquecido con proteína de soya y en los que la hidrólisis limitada de la proteína es crucial para generar las redes tridimensionales del gel. Otros productos que requieren una buena gelificación y la proteína de soya puede ser un sustituto son los embutidos, masas para panificación y algunos alimentos tradicionales como el tofu (Badui, 2006).

Una aplicación de la gelificación es para la coagulación del tofu, en el cual el aislado puro deber estar en una concentración mínima del 3 %, a concentraciones mayores se producirá geles más fuertes bajo las mismas condiciones.

La formación de gel en este caso es atribuida a la polimerización de la proteína desnaturalizada caliente por ligamiento cruzado de los cationes divalentes. Otros factores que juegan un papel importante en la formación satisfactoria del gel son la cantidad y tipo de sales añadidas, la temperatura y forma de adición (Wijeratne, 2005).

3.5.5. VISCOSIDAD

Presentan gran importancia práctica conocer las propiedades de deslizamiento de las dispersiones proteicas para aprovechar las operaciones de absorción, mezcla,

calentamiento, enfriamiento y secado por atomización que implican transferencia de masa y calor (Cheftel, *et al*, 1989).

La viscosidad afecta la palatabilidad, calidad de textura y también el manejo mecánico de los materiales fluidos. Las propiedades de fluido de las proteínas de soya están relacionadas con la solubilidad.

Los aislados e hidrolizados de proteína de soya analizados presentaron un 85.45 % y 88.53 % de proteína respectivamente y presentaron una buena viscosidad a altas concentraciones y alejadas del punto isoeléctrico, por lo que pueden ser utilizados en alimentos bajos en grasas con los mismos atributos deseables de los alimentos que contienen grasa y en los que las propiedades funcionales como la viscosidad influyen tanto en el procesamiento como en las características alimenticias de un artículo alimenticio.

Los aislados e hidrolizados de proteína de soya pueden ser utilizados como simuladores de grasa, gracias a sus diferentes propiedades multi – funcionales, que interaccionan entre sí como la emulsificación, absorción de agua, gelificación y viscosidad. La mayoría de las aplicaciones pueden ser los aderezos para ensaladas, mayonesas, sopas de cremas y salsas, que además de ser alimentos ricos en proteína y bajos en grasa brindan otros un beneficio costo, cuando se reemplazan las claras de huevo, las gomas hidrocoloides y los almidones modificados (Johnson, 2006).

3.5.6. CAPACIDAD Y ESTABILIDAD DE EMULSIÓN

La capacidad de una proteína de formar emulsiones estables es esencial para varios sistemas de alimentos incluyendo las mayonesas, las cremas para café, batidos pasteleros y masas, los aderezos para las ensaladas, postres congelados, carnes molidas, albóndigas salchichas, jamón, y análogos de carnes. Las diferentes capacidades de formación y estabilidad de emulsión se requieren en estos productos debido a sus diferencias en la composición, producción y almacenaje. (Kinsella, 1979).

En la Tabla 16, se presentan algunos ejemplos de proteínas y su actividad emulsionante, en relación con los datos experimentales se puede apreciar que los valores a esos pH son mayores tanto para el aislado como el hidrolizado, por lo cual pueden ser utilizados para la producción de margarinas, mayonesas, helados, cremas pasteleras etc.

Tabla 16. Índice de actividad emulsionante de diversas proteínas (m² de interfase estabilizada por g de proteína utilizada en la prueba)

Proteína	Índice de actividad emulsionante	
	pH 6.5	ph 8.0
Suero de albumina bovina	188	197
Caseinato sódico	149	166
β – Lactoglobulina	123	153
Concentrado proteico de lactosuero	119	142
Aislado proteico de soya	41	92
Proteínas de levadura	8	59
Albumina de huevo	12	49

Fuente: Liu, 1999

La proteína de soya es muy eficiente en la formación de emulsiones agua – aceite, debido a que sus moléculas tienen regiones hidrofílicas e hidrofóbicas de acuerdo a las secuencia de aminoácidos. Los concentrados y aislados de soya, pueden fijar de 70 a 170 mL de aceite por gramo respectivamente, aunque las proteínas insolubles fijan mayor cantidad de aceite la soya es un buen material para ser utilizada en emulsiones alimenticias.

La producción de mayonesas y aderezos de ensaladas a partir de proteína aislada o hidrolizada de proteína de soya, y con aceite de soya son una buena opción de aplicación de las emulsiones. La mayonesa y los aderezos deben contener el 65 % y 30 % de aceite vegetal respectivamente. Los hidrolizados de soya son buenos emulsionantes y tienen una excelente consistencia final para formar mayonesa, sal, azúcar, especias, condimento, vinagre, jugo de limón y aceite de

soya, para formar una mejor emulsión. Una de las causas para que se comercialice e industrialice estos productos es que están libres de grasas trans que son perjudiciales para las personas que consumen mucho estos productos (Liu, 1999).

3.5.7. CAPACIDAD Y ESTABILIDAD DE ESPUMA

La capacidad de espumado aumentó para el aislado e hidrolizado de soya con el incremento de la concentración de proteína, por lo que las características de las propiedades espumantes se mantienen y mejoran con la hidrólisis y se utilizan en diversos alimentos como los dulces (Were, et al. 1995).

Las propiedades espumantes de la proteína de soya dependen de sus propiedades de superficie activas. Para obtener un buen incremento del volumen, la mayor parte de la proteína debe ser inicialmente soluble y capaz de desdoblarse de la interfase, que orientan las superficies polares a las fases líquidas y las no polares a las fases gaseosas. Las moléculas de proteína deben interactuar unas con otras, para formar una película estable y no debe ser muy fuerte para que la proteína se coagule y rompa la película, que provocará una ruptura de la espuma (Wijeratne, 2005).

La Tabla 17, indica los valores de capacidad de espuma de diferentes proteínas incluida la soya, los valores son bajos en relación con los obtenidos en la determinación de esta propiedad. En relación con la concentración en aislados se obtuvo 307.67 % y en hidrolizados 478.21 %, lo cual indica que se duplican y es una propiedad fundamental para la utilización en la fabricación de distintos alimentos. Las espumas o batidos alimenticios tienen una gran aplicación en los sistemas alimenticios, tales como los merengues, los queques, el marshmallow inglés, y algunos otros productos de pastelería y confitería tal como la crema batida, algunas pastas y los helados los souffles (Kolar *et al.*, 1985).

Tabla 17. Comparación del poder espumante (%) de proteínas en solución

Tipo de proteína	Poder espumante a una concentración de proteína al 0.5 % (p/v)
Albumina sérica bovina	280
Aislado proteínico de suero	600
Albúmina de huevo	240
Ovoalbumina	40
Plasma bovino	260
B Lactoglobulina	480
Fibrinogeno	360
Aislado de proteína de soya	235
Proteína de soya (hidrolizada enzimáticamente)	500
Gelatina (obtenida por proceso ácido de piel de puerco)	760

Fuente: Badui, 2006

Productos derivados de soya como hidrolizados presentan excelentes propiedades espumantes que están comercialmente disponibles como sustitutos del huevo, para el uso en confitería y elaboración de merengues (Kinsella, 1979).

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. CONCLUSIONES

- La harina desengrasada, proveniente de Grasas Unicol, reunió las características apropiadas para la elaboración de aislado e hidrolizado de soya, debido a su alto contenido de proteína 54.54 % y bajo porcentaje de grasa 0.49 %.
- Las condiciones utilizadas para la obtención del aislado a escala piloto permitió obtener un valor de proteína del 85.45 %, con un índice de proteína dispersible (PDI) del 88.43%. El rendimiento en peso del aislado fue del 24.55 %, con respecto a la harina desengrasada de soya.
- La hidrólisis enzimática secuencial en la que se utilizó como sustrato, el aislado de soya y con la adición de las enzimas, papaína 0.025 UA/g de sustrato y con flavourzyme 40.0 LAPU/g de sustrato, permitió obtener un porcentaje de proteína del 88.53 % en el hidrolizado y un índice de proteína dispersible (PDI) del 85.24 %, con un rendimiento en peso del 87.13 % con respecto al aislado proteico
- El grado de hidrólisis alcanzado en el proceso hidrolítico fue del 22.07 %, porcentaje que lo clasifica como un hidrolizado extensivo, que es usado para una alimentación especializada, bien como suplemento proteico o dietas médicas.
- El porcentaje de solubilidad del hidrolizado fue cercano al 90 % en todos los rangos de pH, frente al aislado que registró el 80 %, propiedad que puede ser aprovechada en la formulación de alimentos y bebidas energizantes, zumos, y jugos enriquecidos con proteína de soya.

- La influencia del pH en rangos de 2.0 a 10.0, favoreció la absorción de agua en el aislado e hidrolizado de proteína de soya, los valores se incrementaron en el orden del 68.46 % y 46.00 % respectivamente, debido a la gran eliminación de carbohidratos.
- La capacidad de absorción de aceite no presentó una diferencia significativa en el aislado (1.60 g aceite / g proteína) y el hidrolizado (1.42 g aceite / g proteína), en un tiempo de 20 min. El tiempo de exposición no alteró los valores obtenidos en esta propiedad.
- El proceso hidrolítico disminuyó los valores de la viscosidad en función del pH frente a las del aislado, a una temperatura de 20 °C; no existió una diferencia significativa en función de la concentración entre el aislado e hidrolizado de soya. La formación de geles a bajas concentraciones se vio favorecido en el aislado, en cambio en el hidrolizado no presentó una adecuada consistencia y resistencia al deslizamiento.
- La capacidad de formación de la emulsión fue mayor en el hidrolizado con respecto al aislado; sin embargo, disminuyó con la concentración proteica. La influencia del pH mejoró la (CE) a valores alejados del punto isoeléctrico, debido a la interacción entre emulsión y solubilidad.
- La capacidad de formación de espuma del hidrolizado enzimático fue superior a la del aislado y presenta una tendencia lineal con respecto a la concentración y al efecto del pH. El efecto iónico presentó un incremento a concentraciones inferiores del 0.8 % de NaCl. La estabilidad de espuma en el aislado fue mayor que la del hidrolizado con una relación de tiempo de 2:1 horas.
- El hidrolizado enzimático obtenido fue altamente soluble y funcional, con un alto valor proteico, bajo en grasa y carbohidratos, por lo que es adecuado para su aplicación en alimentos ricos en proteínas, que contribuyen a la

salud, gracias a las propiedades nutricionales y funcionales de la proteína de soya.

4.2. RECOMENDACIONES

- Promover al sector agrícola para que amplíe las fronteras de producción de soya con siembra de variedades proteicas, para su utilización en diversos tipos de alimentos, que permitan contribuir con una fuente adecuada de proteína para personas de la tercera edad y niños en pleno crecimiento, que son los más vulnerables a tener deficiencias proteicas.
- Realizar un estudio de pre factibilidad de la implementación de una planta procesadora de hidrolizados en el Ecuador, que incentive el uso de estos productos para mejorar la calidad nutricional de los alimentos.
- Con los resultados alcanzados en el aislado e hidrolizado de proteína de soya se recomienda elaborar un producto específico que permita aprovechar sus propiedades funcionales y comprobar sus distintos beneficios y aceptabilidad del consumidor.

BIBLIOGRAFÍA

1. American Academy of Pediatrics Committee on Nutrition, 1989, "Hypoallergenic infant formulas", 83 (2), 1068.
2. Anglemeir, A. y Montgomey, M., 1982, "Aminoácidos, péptidos y proteínas: En Introducción a la ciencia de alimentos", Editorial Reverté, S.A, Barcelona, España, pp. 269 – 390.
3. A.O.A.C., 2005, "Association of Official Analytical Chemists, Official Methods of Analysis", 8va edición, Editorial A.O.A.C. International, Estados Unidos, pp. 4 – 39, 1 – 29, 159 – 169.
4. Ayala. G., 2005, "Proteína de soya, Soypro", <http://www.quiminet.com/ar2/ar.html>, (Septiembre, 2010).
5. Badui, D., 2006, "Química de los alimentos", 4ta edición, Editorial Pearson, México, pp. 187 – 237.
6. Battaner, A., 2000, "Biomoléculas", 1era edición, Editorial Salamanca, España, pp. 245 – 247.
7. Berg, J., Tymoczko, J. y Stryer, L., 2004, "Bioquímica", 5ta edición, Editorial Reverté S.A., Barcelona, España, pp. 51 – 72.
8. Bernardi D., Pilosof, A. y Bartholomai, G., 1991 "Enzymatic Modification of Soy Protein Concentrates by Fungal and Bacterial Proteases", JAOCS, 2 (68), 102.
9. Blanco, A., 2007, "Química Biológica", 8va edición, Editorial El Ateneo, Buenos Aires, Argentina, pp. 36 – 42.

10. Boatella, R., Codony, R. y López, P., 2004, "Química de los alimentos II", Editorial Publicación y ediciones de la universidad de Barcelona, España, pp. 15 – 23.
11. Bohinski, R., 1991, "Bioquímica", 5ta edición, Editorial Adisson Wesley Iberoamérica, S.A., Estados Unidos, pp. 230 – 252.
12. Boyer, R., 2000, "Conceptos de Bioquímica", Internacional Thomson Editores S.A., Buenos Aires, Argentina, pp.78 –128.
13. Braverman, J., 1980, "Introducción a la Bioquímica de alimentos", Editorial El Manual Moderno, México, pp. 17– 27.
14. Byong, H., 2000, "Fundamentos de la biotecnología en alimentos", 1era Edición, Editorial Acribia, S.A., Zaragoza, España, pp. 26 – 25.
15. Campbell, P., Smith, A. y Peters, T., 2006, "Bioquímica Ilustrada: Bioquímica y biología molecular en la era posgenómica", 5ta edición, Editorial Masson, S.A., Barcelona España, pp. 13 – 14.
16. Chau, C., Cheung, K. y Wong, Y., 1977, "Funtional Properties of Protein Concentrates from Three Chinese Indigenius Legume Seed", J. Agr. And Food Chem., 1 (45), 2500.
17. Cheftel, J., Cuq, J. y Lorient, D., 1989, "Proteínas Alimentarias: Bioquímica. Propiedades funcionales. Valor nutritivo. Modificaciones químicas", Editorial Acribia, S.A., Zaragoza, España, pp. 5 – 47.
18. Chobert, J., Bertrand-Harb, C. y Nicolas, M., 1988, "Solubility and emulsification properties of caseins and whey proteins modified enzymatically by tripsin ", J Agric Food Chem., 1 (36), 220.

19. Coffmann, C. y García, V., 1977, "Functional properties and amino acid content of a protein isolate from mung bean flour" J. Food Technol. (U.K.), 2 (12), 473.
20. Damodaran, S., 1996, "Functional properties. In: Food proteins: Properties and characterization", Editorial Shurvo Nakai, pp. 167 – 234.
21. Damodaran. S., 1994, "Structure function relationship of food proteins. In Protein functionality in food systems", Editorial Hettiarachchy and Ziegler, New York, pp. 1 – 37.
22. FAO, 1997, "La soya es una feliz novedad en el régimen alimenticio de Malawi – África", <http://www.fao.org/noticias/html>, (Agosto, 2010).
23. Fersht, A., 1980, "Estructura y mecanismo de los enzimas", Editorial Reverté, S.A., Barcelona, España, pp. 244 – 245.
24. Harvey, R., Champe, P. y Ferrier, D., 2006, "Bioquímica", 3era edición, Editorial Mc-Graw Hill Interamericana, México, pp. 18 – 24.
25. Hermansson, A., 1986, "Soy protein gelation", Oil chemical Scientific, 1 (63), 658.
26. Jiménez, A., 2006, "Valor nutritivo de la proteína de soya", Investigación y Ciencia, 36 (14), 29.
27. Johnson, R., 2006, "Los concentrados de proteína de suero y sus aplicaciones en productos bajos en grasas", http://www.alimentariaonline.com/apadmin/img/upload/MLC011_WPCBAJAENGRASA_L.pdf
28. Kim, S., Peter, S. y Rhee, K., 1990, "Functional properties of proteolytic enzyme modified soy protein isolate", J. Agric. Food Chem, 1 (38), 651.

29. Kinsella, J., Damodaran, S. y German, B., 1985, "Physicochemistry and functional properties of oil seed proteins with emphasis on soy protein", *New Protein Foods*, 5 (5), 107.
30. Kinsella, J. y Whitehead, D., 1989, "Proteins in Whey: Chemical, physical and functional properties", *Advances in food and Nutrition Research*, 3 (33), 343.
31. Kolar, C., Richert, S., Decker, C., Steinke, F. y Vander, R., 1985, "Isolated soy protein", *New Protein Foods*, 5 (7), 259.
32. Kwok, K., y Niranjana, K., 1995, "Effect of thermal processing on soymilk", *J. Food Sci. Technology*, 3 (30), 263.
33. Lahl, W., y Braun, S., 1994, "Enzymatic production of protein hydrolyzates for food use", *Food Technology*, 48 (1), 68.
34. Lehninger, A., 1981, "Bioquímica. Las Bases Moleculares de la Estructura y Función Celular", 2da edición, Editorial Pueblo y Educación, Baltimore, Estados Unidos, pp.73 – 88.
35. Liener, I., 1972, "Nutritional Value of food protein products", *Soybeans, Chemistry and technology*, 7 (1), 203.
36. Lin, M., Humbert, E. y Sosulski, F., 1974, "Certain functional properties of sunflower meal products", *J. Food Scientifics*, 1 (33), 368.
37. Linden, G. y Lorient, D., 1996, "Bioquímica Agroindustrial", 1era edición, Editorial Acribia S.A., Zaragoza España, pp.50 – 63.
38. Liu, K., 1999, "Soybeans: Chemistry, technology and utilization", Editorial An

aspen publication, Estados Unidos, pp. 392 – 406

39. Lusas, E., 1985, "Sunflower seed protein", *New Proteins Food*, 1 (5), 393.
40. Mangino, M., 1984, "Physicochemical aspects of the whey protein functionality", *Diary Scientific*, 67, pp. 2711 – 2722.
41. Mangino, M., 1992, "Gelation of whey – protein concentrates", *Food Technology*, 1 (46), 114.
42. Mitchell, J. y Ledward, D., 1986, "Functional properties of food Macromolecules", 1era edición, Editorial Science publishers, New York, pp. 80 – 270.
43. Munive, P., 2009, "Elaboración de un suplemento alimenticio en polvo para consumo humano a partir de una mezcla de hidrolizado de soya y almidón de maíz", Proyecto de Titulación previo a la obtención del Título de Ingeniero Agroindustrial, EPN, Quito, Ecuador, pp. 43 – 47.
44. Murray, R., Granner, D., Mayes P. y Rodwell V., 1997, "Bioquímica de Harper", 14va edición, Editorial El Manual Moderno, México, pp. 51 – 61.
45. Naczk, M., Diosady, L. y Rubin, L., 1985, "Functional properties of canola meals produced by a two-phase solvent extraction system", *J. Food Sc.*, 1 (50), 1685.
46. Nakai, S., 1983, "Structure-function relationship of food proteins with a emphasis on the importance of protein hydrophobicity", *J. Agric. Food Chem.*, 1(31), 676.
47. Nawar, W., 1985, "Food Chemistry", 3era edición, Editorial Dekker, New York, pp. 139 – 244.
48. Panyam, D., y Kilara, A., 1996, "Enhancing the functionality of food proteins

by enzymatic modification” Science & Technology, 1 (7), 120.

49. Peña, A., 2004, “Bioquímica”, 2da edición, Editorial Limusa S.A., México, pp. 89 – 99.
50. Pernollet, J. y Mosse, J., 1983, “Structure and location of legume and cereal seed storage proteins”, Seed proteins, 1 (20), 155.
51. Rha, CK., y Pradipasena, P., 1986 “Functional properties of food macromolecules”, 3era edición, Editorial Elsevier applied science publishers, Londres, pp. 79 – 120.
52. Sathe, S., Deshpande, S. y Salunkhe D., 1982. “Functional Properties of Lupin Seed (*Lupinus mutabilis*)”, Proteins and Protein Concentrates, J. Food Sci., 1 (47), 491.
53. Sandoval, E., Quintero A. y Ayala, A., 2005, “Reología y textura de masas: Aplicaciones en trigo y maíz”, Ingeniería e Investigación, 1 (25), 72.
54. Stading, M. y Hermansson, A., 1990, “Viscoelastic behaviour of β – lactoglobulin gel structures”, Food Hydrocolloids, 1 (4), 121.
55. Tornberg, E. y Ediriweera, N., 1988, “Factors that influence the coalescence stability of protein – stabilized emulsions, estimated from the proportion of oil extracted by hexane”, J. Sci. Food Agric., 1 (46), 93.
56. Torún, B., 1985, “Proteínas: química, metabolismo y requerimientos nutricionales”, New York, pp. 99 – 110.
57. Tschimirov, J., Schewenke, K., Augustat, D., y Tolstoguzov, V., 1983, “Influence of partial enzymatic hydrolysis on selected functional properties of wheat gluten”, Nahrung, 1 (27), 659.

58. Vaclavik, V., 2002, "Fundamentos de Ciencia de los Alimentos", 1era edición, Editorial Acribia, S.A., Zaragoza, España, pp. 133 – 147.
59. Villacrés, E., 2001, "Obtención de hidrolizado enzimático de alta funcionalidad a partir del chocho (*lupinus mutabilis sweet*)", Tesis de Maestría, EPN, Quito, Ecuador, pp. 161-171.
60. Voutsinas, L., Cheung, E., y Nakai, S., 1983, "Relationships of hydrophobicity to emulsifying properties of heat denatured proteins", J. of Food Sci., 1 (48), 58.
61. Waggle, D., Steinke, F. y Shen, J., 1989, "Isolated soy protein", 1era edición, Editorial R.H, Matthews, New York, pp. 99 – 138.
62. Waniska, R., Shetty, J. y Kinsella, J., 1981, "Protein – stabilized emulsions: Effects of modification on the emulsifying activity of bovine serum albumin in a model system", J. Agric. Food chemistry, 1 (29) 826.
63. Watanabe, D., Ebine, H. y Ohda, D., 1971, "Soybeans in foods", 1era edición, Editorial Kohrin Shoin, Tokyo, p. 243.
64. Were, L., Hettiarachccy, N. y Kalapathy, U., 1996, "Modified soy proteins with improved foaming and hydration properties", Institute of food technologist annual meeting, 1 (53), 20.
65. Wijeratne, B., 2005, "Propiedades funcionales de la proteína de soya en un sistema de alimentos", Programa INTSOY (International Soybean Program), Universidad de Illinois, <http://www.alfa-editores.com/com/alimentaria.html> (Enero, 2009).
66. Wolf, W., 1970, "Soybeans proteins: their functional, chemical and physical properties", J. Agric. Food Chem., 1 (18), 369.

ANEXOS

ANEXO I

MÉTODO PARA LA DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE PROTEÍNA DISPERSIBLE (P.D.I)

- Se pesaron 20 g de muestra.
- Se midió 300 mL de agua destilada a 25 °C. Se vertió 50 mL en la licuadora.
- La muestra se transfirió a la licuadora y se mezcló con una espátula para formar una pasta inicial. Se adicionó el agua remanente con agitación, para formar una mezcla manejable.
- Se licuó a 8 500 rpm por 10 min y la mezcla trasvasó en un vaso de 600 mL.
- Se dejó decantar la mezcla y se pipeteó 50 mL para centrifugar a 2 700 rpm por 10 min.
- Se determinó la cantidad de proteína, con el método de Kjeldahl.

$$\% \text{ Proteína dispersible en agua} = \frac{14.01 \times N \times 6.25 \times 100 (ml.m - ml.b)}{\text{peso muestra mg}}$$

[11]

Donde:

N = Normalidad del ácido titulante

6.25 = Factor de conversión de nitrógeno a proteína

$ml.m$ = mL de ácido gastado en la titulación de la muestra

$ml.b$ = mL de ácido gastados en la titulación del blanco

$$\% \text{ Índice de proteína dispersible (P.D.I)} = \frac{\text{Proteína Dispersible en agua} \times 100}{\% \text{ Proteína total}}$$

[12]

ANEXO II

MÉTODO PARA DETERMINACIÓN DEL PERFIL DE AMINOÁCIDOS

Las muestras se hidrolizaron con HCl 6N por 22 horas a 110 °C. El ácido fue evaporado en rotavapor BUCHI, RE 111 y el residuo seco fue disuelto con buffer citrato a pH 2.2 e inyectados en el HPLC. El OPA (orto-phtaldehído) fue usado como reactivo derivatizante. Este reactivo en presencia de un grupo tiol (SH), reacciona con los grupos amino primario (-NH₂), que origina un compuesto altamente fluorescente, el cual es detectado selectivamente por un detector de fluorescencia. RF-10. La longitud de onda de excitación fue de 350 nm y la de emisión 450 nm (Manual Shimadzu, 1993).

ANEXO III

Tabla 18. Perfil granulométrico de la harina de soya desengrasada

HARINA MOLIDA DE SOYA

Malla ASTM No.	Abertura tamiz (µm)	Material retenido (gr)	% Material retenido	% Retenido acumulado	% Pasante acumulado
80	180	5.95	6.00	6.00	94.00
100	150	3.93	3.96	9.97	90.03
140	106	6.18	6.23	16.20	83.80
230	63	8.16	8.23	24.43	75.57
270	53	11.41	11.51	35.94	64.06
325	45	18.48	18.64	54.58	45.42
Fondo	-	45.03	45.42	100.00	0.00

Datos promedios de 2 determinaciones

Tabla 19. Perfil granulométrico del aislado proteico de soya**AISLADO PROTEICO DE SOYA**

Malla ASTM No.	Abertura tamiz (μm)	Material retenido (gr)	% Material retenido	% Retenido acumulado	% Pasante acumulado
80	180	3.14	3.15	3.15	96.85
100	150	5.93	5.94	9.09	90.91
140	106	8.70	8.72	17.81	82.19
230	63	11.30	11.32	29.13	70.87
270	53	45.64	45.74	74.87	25.13
325	45	9.63	9.65	84.53	15.47
Fondo	-	15.44	15.47	100.00	0.00

Datos promedios de 2 determinaciones

Tabla 20. Perfil granulométrico del hidrolizado enzimático de soya**HIDROLIZADO DE SOYA**

Malla ASTM No.	Abertura tamiz (μm)	Material retenido (gr)	% Material retenido	% Retenido acumulado	% Pasante acumulado
80	180	3.83	3.85	3.85	96.15
100	150	4.73	4.75	8.60	91.40
140	106	7.36	7.40	16.00	84.00
230	63	8.69	8.73	24.73	75.27
270	53	13.80	13.87	38.60	61.40
325	45	55.84	56.11	94.70	5.30
Fondo	-	5.27	5.30	100.00	0.00

Datos promedios de 2 determinaciones

ANEXO IV

Tabla 21. Porcentaje de recuperación de proteína y rendimiento en peso del aislado e hidrolizado de proteína de soya

Material	Peso (g)	Proteína (%)	Proteína (g)	Rendimiento en peso (%)
Harina desengrasada	1 100.00	54.54	594.94	-
Aislado	270.00	85.45	230.72	24.55
Hidrolizado	235.26	88.53	208.28	87.13

ANEXO V

Tabla 22. Porcentaje de grado de hidrólisis durante el proceso hidrolítico por la acción secuencial de las enzimas papaína y flavourzyme

Tiempo	% GH
0	0.00
5	4.48
10	6.86
15	8.88
20	10.23
25	11.77
30	13.11
35	15.17
40	16.84
45	18.50
50	20.70
55	21.29
60	22.07

ANEXO VI

Tabla 23. Datos experimentales de la solubilidad del aislado e hidrolizado de soya

AISLADO				HIDROLIZADO			
pH	mg proteína/ml solución	Proteína soluble (%)	Grupo Homogéneo	pH	mg proteína/ml solución	Proteína soluble (%)	Grupo Homogéneo
10.0	163.74 ± 1.24	81.87	A	10.0	172.50 ± 0.62	86.25	A
2.0	154.99 ± 0.62	77.49	B	8.0	166.81 ± 0.93	83.40	B
8.0	137.04 ± 1.55	68.52	C	2.0	164.62 ± 1.86	82.31	B
6.5	35.90 ± 0.62	17.95	D	3.5	157.17 ± 1.55	78.59	C
5.5	20.58 ± 0.93	10.29	E	6.5	157.17 ± 0.93	78.59	C
3.5	18.83 ± 0.31	9.41	E	4.5	148.42 ± 1.55	74.21	D
4.5	8.32 ± 1.55	4.16	F	5.5	147.98 ± 0.62	73.99	D

Letras diferentes por columna indican diferencia significativa (Tukey 5%)
 Datos promedio de 2 determinaciones.

Análisis de varianza de la solubilidad del aislado

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	22818.90	6	3803.16	5674.46	0.0000
Within groups	9.38	14	0.67		
Total (Corr.)	22828.30	20			

Análisis de varianza de la solubilidad del hidrolizado

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	398.29	6	66.38	77.35	0.0000
Within groups	12.02	14	0.86		
Total (Corr.)	410.30	20			

Prueba de Significancia de Tukey al 5 % para la solubilidad del aislado e hidrolizado

Tratamiento	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
1. Hidrolizado	21	79.64	A
2. Aislado	21	38.61	B
Contrast	Difference	+/- Limits	
1 - 2	*41.02	10.14	

* denotes a statistically significant difference.

ANEXO VII

Tabla 24. Capacidad de absorción de agua en el aislado e hidrolizado enzimático de soya en función del pH (g agua / g proteína)

pH	AISLADO	Grupo Homogéneo	HIDROLIZADO	Grupo Homogéneo
10.0	1.87 ± 0.02	A	2.45 ± 0.04	A
8.0	1.69 ± 0.02	B	2.32 ± 0.02	B
6.0	1.55 ± 0.02	C	2.17 ± 0.04	C
4.0	1.40 ± 0.02	D	2.00 ± 0.04	D
2.0	1.11 ± 0.01	E	1.68 ± 0.02	E

Letras diferentes por columna indican diferencia significativa (Tuckey 5%)
 Datos promedio de 3 determinaciones.

Análisis de Varianza de la capacidad de absorción de agua del aislado

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	1.01	4	0.25	271.38	0.0000
Within groups	0.00926667	10	0.000926667		
Total (Corr.)	1.01517	14			

Análisis de Varianza de la capacidad de absorción de agua del hidrolizado

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	1.13751	4	0.284377	344.00	0.0000
Within groups	0.00826667	10	0.000826667		
Total (Corr.)	1.14577	14			

Prueba de Significancia de Tukey al 5 % para la absorción de agua del aislado e hidrolizado de proteína de soya

Tratamiento	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
1. Hidrolizado	15	2.55	A
2. Aislado	15	1.15	B
Contrast	Difference	+/- Limits	
1 - 2	*-0.596667	0.0224865	

* denotes a statistically significant difference.

ANEXO VIII

Tabla 25. Capacidad de absorción de aceite del aislado e hidrolizado enzimático de soya en función del tiempo de exposición (g aceite / g proteína)

TIEMPO	AISLADO	Grupo Homogéneo	TIEMPO	HIDROLIZADO	Grupo Homogéneo
20	1.60 ± 0.03	A	30	1.42 ± 0.01	A
25	1.53 ± 0.01	B	25	1.40 ± 0.02	AB
15	1.52 ± 0.02	B	20	1.40 ± 0.01	AB
30	1.48 ± 0.01	C	15	1.38 ± 0.02	BC
10	1.43 ± 0.01	D	10	1.36 ± 0.01	C
5	1.41 ± 0.01	B	5	1.36 ± 0.01	C

Letras diferentes por columna indican diferencia significativa (Tuckey 5%)

Datos promedio de 3 determinaciones

Análisis de Varianza de la capacidad de absorción de aceite del aislado

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	0.0715333	5	0.0143067	69.60	0,0000
Within groups	0.0024666	12	0.000205556		
Total (Corr.)	0.074	17			

Análisis de Varianza de la capacidad de absorción de aceite del hidrolizado

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	0.00871111	5	0.00174222	13.07	0.0002
Within groups	0.0016	12	0.000133333		
Total (Corr.)	0.0103111	17			

Prueba de Significancia de Tukey al 5 % para la absorción de aceite del aislado e hidrolizado de proteína de soya

Tratamiento	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
1. Aislado	18	1.50	A
2. Hidrolizado	18	1.39	B
Contrast	Difference	+/- Limits	
1 - 2	si *0.107778	0.0213428	

* denotes a statistically significant difference.

ANEXO IX

Tabla 26. Viscosidad (cP) del aislado e hidrolizado de soya en función de la concentración

Concentración % (p/v)	AISLADO	Grupo Homogéneo	HIDROLIZADO	Grupo Homogéneo
20	111.19 ± 0.51	A	128.56 ± 0.62	A
18	76.61 ± 0.95	B	90.93 ± 0.82	B
16	56.02 ± 0.40	C	43.61 ± 0.59	C
14	33.07 ± 0.49	D	27.70 ± 0.63	D
12	21.30 ± 0.25	E	15.96 ± 0.16	E
10	16.91 ± 0.50	F	9.41 ± 0.21	F
8	10.39 ± 0.51	G	7.44 ± 0.12	G

Letras diferentes por columna indican diferencia significativa (Tuckey 5%)

Datos promedio de 3 determinaciones

Análisis de Varianza de la viscosidad en función de la concentración del aislado

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	24393.50	6	4065.58	7260.77	0.0000
Within groups	7.84	14	0.559938		
Total (Corr.)	24401.30	20			

Análisis de Varianza de la viscosidad en función de la concentración del hidrolizado

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	24393.50	6	4065.58	7260.77	0.0000
Within groups	7.84	14	0.559938		
Total (Corr.)	24401.30	20			

Prueba de Significancia de Tukey al 5 % para la viscosidad en función de la concentración del aislado e hidrolizado de proteína de soya

Tratamiento	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
1. Aislado	21	46.49	A
2. Hidrolizado	21	46.23	A
Contrast	Difference	+/- Limits	
1 - 2	0.268095	3.69846	

* denotes a statistically significant difference.

Tabla 27. Viscosidad (cP) del aislado e hidrolizado de soya en función del pH

pH	AISLADO	Grupo Homogéneo	pH	HIDROLIZADO	Grupo Homogéneo
10.0	88.04 ± 0.07	A	10.0	67.84 ± 0.17	A
2.0	61.97 ± 0.84	B	8.0	33.81 ± 0.57	B
8.0	42.67 ± 0.40	C	2.0	21.96 ± 0.84	C
6.0	16.07 ± 0.28	D	6.0	12.38 ± 0.06	D
4.0	12.82 ± 0.42	E	4.0	9.37 ± 0.18	E

Letras diferentes por columna indican diferencia significativa (Tuckey 5%)

Datos promedio de 3 determinaciones

Análisis de Varianza de la viscosidad en función del pH del aislado

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	12166.20	4	3041.55	6338.41	0.0000
Within groups	4.80	10	0.47986		
Total (Corr.)	12171.0	14			

Análisis de Varianza de la viscosidad en función del pH del hidrolizado

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	6694.07	4	1673.52	3802.29	0.0000
Within groups	4.40133	10	0.44013		
Total (Corr.)	6698.47	14			

Prueba de Significancia de Tukey al 5 % para la viscosidad en función del pH del aislado e hidrolizado de proteína de soya

Tratamiento	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
1. Aislado	15	44.3133	A
2. Hidrolizado	15	29.0733	B
Contrast	Difference	+/- Limits	
1 - 2	*15.24	5.81956	

* denotes a statistically significant difference.

Tabla 28. Viscosidad (cP) del aislado e hidrolizado de soya en función de la temperatura

Temperatura °C	AISLADO	Grupo Homogéneo	HIDROLIZADO	Grupo Homogéneo
20	62.60 ± 0.76	A	73.01 ± 0.53	A
30	48.60 ± 0.57	B	56.71 ± 0.47	B
40	37.21 ± 0.70	C	44.73 ± 0.91	C
50	21.46 ± 0.91	D	32.88 ± 0.74	D

Letras diferentes por columna indican diferencia significativa (Tuckey 5%)

Datos promedio de 3 determinaciones

Análisis de Varianza de la viscosidad en función de la temperatura del aislado

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	2751.37	3	917.122	1851.62	0.0000
Within groups	3.96247	8	0.49530		
Total (Corr.)	2755.33	11			

Análisis de Varianza de la viscosidad en función de la temperatura del hidrolizado

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	2610.54	3	870.18	1070.54	0.0000
Within groups	6.50273	8	0.812842		
Total (Corr.)	2617.04	11			

Prueba de Significancia de Tukey al 5 % para la viscosidad en función de la temperatura del aislado e hidrolizado de proteína de soya

Tratamiento	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
1. Hidrolizado	12	51.8308	A
2. Aislado	12	42.4658	B
Contrast	Difference	+/- Limits	
1 - 2	*-9.365	0.953988	

* denotes a statistically significant difference.

ANEXO X

Tabla 29. Capacidad de emulsificación del aislado e hidrolizado de soya en función de la concentración (mL aceite / g proteína)

Concentración % (p/v)	AISLADO	Grupo Homogéneo	Concentración % (p/v)	HIDROLIZADO	Grupo Homogéneo
4	203.00 ± 1.73	A	4	246.67 ± 1.53	A
6	196.00 ± 2.08	B	2	235.00 ± 1.00	B
2	195.67 ± 0.58	B	6	225.33 ± 0.58	C
8	179.67 ± 1.53	C	8	200.33 ± 1.53	D
10	165.33 ± 1.53	D	10	191.67 ± 1.53	E

Letras diferentes por columna indican diferencia significativa (Tuckey 5%)

Datos promedios de 3 determinaciones

Análisis de Varianza de la emulsificación en función de la concentración del aislado

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	2854.27	4	713.567	289.28	0.0000
Within groups	24.6667	10	2.46667		
Total (Corr.)	2878.93	14			

Análisis de Varianza de la emulsificación en función de la concentración del hidrolizado

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	8361.33	4	2090.33	1011.45	0.0000
Within groups	20.6667	10	2.06667		
Total (Corr.)	8382.0	14			

Prueba de Significancia de Tukey al 5 % para la capacidad de emulsificación en función de la concentración del aislado e hidrolizado de proteína de soya

Tratamiento	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
1. Hidrolizado	15	219.80	A
2. Aislado	15	187.86	B
Contrast	Difference	+/- Limits	
1 - 2	*-31.9333	3.68924	

* denotes a statistically significant difference.

Tabla 30. Capacidad de emulsión del aislado e hidrolizado de soya en función del pH

pH	AISLADO	Grupo Homogéneo	pH	HIDROLIZADO	Grupo Homogéneo
10.0	70.19 ± 1.79	A	10.0	91.95 ± 2.32	A
8.0	64.63 ± 1.79	B	8.0	88.17 ± 2.26	A
6.0	57.07 ± 1.69	C	2.0	73.23 ± 1.81	B
2.0	55.09 ± 0.58	C	6.0	72.63 ± 0.61	B
4.0	42.46 ± 0.28	D	4.0	68.95 ± 0.53	B

Letras diferentes por columna indican diferencia significativa (Tuckey 5%)

Datos promedios de 3 determinaciones

Análisis de Varianza de la emulsificación en función del pH del aislado

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	1326.79	4	331.697	167.15	0.0000
Within groups	19.8438	10	1.98438		
Total (Corr.)	1346.63	14			

Análisis de Varianza de la emulsificación en función del pH del hidrolizado

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	1165.81	4	291.452	101.23	0.0000
Within groups	28.7924	10	2.87924		
Total (Corr.)	1194.6	14			

Prueba de Significancia de Tukey al 5 % para la capacidad de emulsificación en función del pH del aislado e hidrolizado de proteína de soya

Tratamiento	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
1. Hidrolizado	15	78.3953	A
2. Aislado	15	57.8867	B
Contrast	Difference	+/- Limits	
1 - 2	*-31.9333	3.68924	

* denotes a statistically significant difference.

Tabla 31. Estabilidad de emulsión del aislado e hidrolizado de soya en función del pH (%)

pH	 AISLADO	 HIDROLIZADO
2	27.97 ± 0.54	39.67 ± 0.65
4	42.50 ± 0.50	49.10 ± 0.37
6	40.69 ± 0.98	42.56 ± 0.26
8	36.40 ± 0.40	38.48 ± 0.26
10	32.46 ± 0.29	35.51 ± 0.35

Datos promedios de 3 determinaciones

ANEXO XI

Tabla 32. Capacidad de formación de espuma del aislado e hidrolizado proteico de soya en función de la concentración (%).

Concentración % (p/v)	AISLADO	Grupo Homogéneo	HIDROLIZADO	Grupo Homogéneo
10	324.00 ± 4.00	A	478.21 ± 2.22	A
8	301.33 ± 2.31	B	457.69 ± 3.85	B
6	268.00 ± 4.00	C	441.83 ± 2.30	C
4	226.00 ± 2.00	D	410.00 ± 2.00	D
2	181.33 ± 2.31	E	357.33 ± 2.31	E

Letras diferentes por columna indican diferencia significativa (Tuckey 5%)

Datos promedios de 3 determinaciones

Análisis de Varianza de la espuma en función de la concentración del aislado

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	30504.90	4	7626.23	850.86	0.0000
Within groups	89.6297	10	8.96297		
Total (Corr.)	30594.6	14			

Análisis de Varianza de la espuma en función de la concentración del hidrolizado

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	30504.90	4	7626.23	850.86	0.0000
Within groups	89.6297	10	8.96297		
Total (Corr.)	30594.6	14			

Prueba de Significancia de Tukey al 5 % para la capacidad de formación de espuma en función de la concentración del aislado e hidrolizado de proteína de soya

Tratamiento	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
1. Hidrolizado	15	427.979	A
2. Aislado	15	251.489	B
Contrast	Difference	+/- Limits	
1 - 2	*-176.489	4.36768	

* denotes a statistically significant difference.

Tabla 33. Estabilidad de espuma del aislado proteico de soya en función de la concentración (%).

Tiempo (h)	CONCENTRACIÓN DEL AISLADO DE SOYA				
	2%	4%	6%	8%	10%
0.0	181.33 ± 2.31	226.00 ± 2.00	268.00 ± 4.00	301.33 ± 2.31	324.00 ± 4.00
0.5	178.00 ± 2.00	224.00 ± 0.00	264.00 ± 4.00	298.67 ± 2.31	321.33 ± 2.31
1.0	174.67 ± 2.31	222.67 ± 2.31	262.67 ± 2.31	298.67 ± 2.31	312.67 ± 3.06
1.5	172.00 ± 4.00	221.33 ± 2.31	250.00 ± 2.00	290.00 ± 2.00	306.00 ± 2.00
2.0	161.33 ± 2.31	206.00 ± 2.00	239.33 ± 3.06	270.00 ± 2.00	298.00 ± 2.00
2.5	154.00 ± 2.00	188.67 ± 2.31	220.67 ± 3.06	247.33 ± 3.06	266.00 ± 2.00
3.0	140.00 ± 4.00	163.33 ± 3.06	208.00 ± 2.00	234.67 ± 3.06	252.67 ± 3.06
4.0	104.00 ± 4.00	155.33 ± 3.06	184.00 ± 4.00	219.33 ± 3.06	239.33 ± 3.06
5.0	84.00 ± 4.00	130.67 ± 3.06	143.33 ± 3.06	179.33 ± 3.06	213.33 ± 3.06
6.0	72.00 ± 4.00	94.00 ± 2.00	131.33 ± 3.06	163.33 ± 3.06	174.00 ± 2.00
7.0	42.67 ± 3.06	67.33 ± 3.06	180.00 ± 3.06	120.67 ± 1.16	143.33 ± 3.06
8.0	18.00 ± 2.00	30.00 ± 2.00	50.00 ± 2.00	72.67 ± 3.06	86.00 ± 2.00

Datos promedio de 3 determinaciones

Tabla 34. Estabilidad de espuma del hidrolizado enzimático de soya en función de la concentración (%).

Tiempo (h)	CONCENTRACIÓN DEL HIDROLIZADO ENZIMÁTICO DE SOYA				
	2%	4%	6%	8%	10%
0.0	357.33 ± 2.31	410.00 ± 2.00	441.83 ± 2.30	457.69 ± 3.85	478.21 ± 2.22
0.5	321.30 ± 2.31	360.67 ± 3.06	398.04 ± 3.92	403.85 ± 3.85	453.85 ± 1.92
1.0	279.30 ± 3.06	300.00 ± 4.00	354.90 ± 3.92	362.18 ± 2.94	408.97 ± 2.22
1.5	202.70 ± 2.31	247.33 ± 3.06	293.46 ± 2.26	319.23 ± 1.92	344.23 ± 1.92
2.0	145.30 ± 2.31	208.67 ± 1.15	253.59 ± 2.30	276.92 ± 3.85	286.54 ± 1.92
2.5	100.00 ± 4.00	151.33 ± 1.15	182.35 ± 1.96	214.74 ± 2.94	238.46 ± 1.92
3.0	52.00 ± 2.00	102.67 ± 2.31	135.95 ± 2.30	157.69 ± 1.92	172.44 ± 2.94
3.5	13.30 ± 2.31	50.00 ± 2.00	90.85 ± 2.26	113.46 ± 1.92	137.82 ± 2.94
4.0	0.00 ± 0.00	12.00 ± 4.00	26.14 ± 4.08	57.69 ± 3.85	82.69 ± 1.92
4.5	0.00 ± 0.31	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	19.23 ± 3.85	44.23 ± 1.92

Datos promedio de 3 determinaciones

ANEXO XII

Tabla 35. Capacidad de formación de espuma del aislado e hidrolizado de soya en función del pH (%)

pH	AISLADO	Grupo Homogéneo	pH	HIDROLIZADO	Grupo Homogéneo
10.0	319.87 ± 2.94	A	10.0	461.54 ± 3.85	A
8.0	284.62 ± 3.85	B	8.0	441.67 ± 5.55	B
6.0	252.94 ± 3.92	C	6.0	413.73 ± 3.92	C
2.0	190.67 ± 2.31	D	4.0	383.66 ± 5.66	D
4.0	173.33 ± 2.31	E	2.0	361.33 ± 2.31	E

Letras diferentes por columna indican diferencia significativa (Tuckey 5%)

Datos promedios de 3 determinaciones

Análisis de Varianza de la espuma en función del pH del aislado

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	45797.7	4	11449.4	1165.52	0.0000
Within groups	98.2348	10	9.82348		
Total (Corr.)	45895.9	14			

Análisis de Varianza de la espuma en función del pH del hidrolizado

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	19028.6	4	4757.16	201.38	0.0000
Within groups	236.233	10	23.6233		
Total (Corr.)	19264.9	14			

Prueba de Significancia de Tukey al 5 % para la capacidad de formación de espuma en función del pH del aislado e hidrolizado de proteína de soya

Tratamiento	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
1. Hidrolizado	15	413.118	A
2. Aislado	15	244.353	B
Contrast	Difference	+/- Limits	
1 - 2	*-168.765	10.0857	

* denotes a statistically significant difference.

Tabla 36. Estabilidad de espuma del aislado proteico de soya en función del pH (%)

Tiempo (h)	pH				
	2	4	6	8	10
0.0	190.67 ± 2.31	173.33 ± 2.31	252.94 ± 3.92	284.62 ± 3.85	319.87 ± 2.94
0.5	190.67 ± 2.31	173.33 ± 2.31	252.94 ± 3.92	277.56 ± 2.94	319.87 ± 2.94
1.0	186.67 ± 2.31	169.33 ± 1.15	245.75 ± 3.00	272.44 ± 2.94	308.97 ± 2.22
1.5	179.33 ± 3.06	156.67 ± 3.06	231.37 ± 1.96	259.62 ± 1.92	279.49 ± 2.22
2.0	159.33 ± 1.15	150.00 ± 2.00	222.22 ± 1.13	246.15 ± 3.85	271.15 ± 1.92
2.5	154.00 ± 2.00	138.00 ± 2.00	209.80 ± 3.92	236.54 ± 1.92	261.54 ± 3.85
3.0	146.00 ± 2.00	132.00 ± 2.00	195.42 ± 2.26	219.23 ± 1.92	250.00 ± 3.85
4.0	132.67 ± 3.06	100.00 ± 4.00	179.08 ± 2.30	190.38 ± 1.92	238.46 ± 1.92
5.0	105.33 ± 2.31	74.00 ± 2.00	154.90 ± 1.96	176.28 ± 2.94	196.15 ± 1.92
6.0	79.33 ± 3.06	20.00 ± 4.00	123.53 ± 1.96	146.79 ± 2.94	156.41 ± 2.94
7.0	52.00 ± 2.00	0.00 ± 0.00	72.55 ± 1.96	87.82 ± 2.94	121.15 ± 1.92
8.0	20.00 ± 4.00	0.00 ± 0.00	30.07 ± 2.30	46.15 ± 1.92	59.62 ± 1.92

Datos promedio de 3 determinaciones

Tabla 37. Estabilidad de espuma del hidrolizado enzimático de soya en función del pH (%)

Tiempo (h)	pH				
	2	4	6	8	10
0.0	361.33 ± 2.31	383.66 ± 5.66	413.73 ± 3.92	441.67 ± 5.55	461.54 ± 3.85
0.5	356.00 ± 4.00	371.90 ± 2.26	402.61 ± 3.00	421.79 ± 2.22	442.31 ± 3.85
1.0	334.67 ± 2.31	341.83 ± 2.26	373.20 ± 2.26	391.03 ± 2.22	407.69 ± 3.85
1.5	302.67 ± 2.31	273.86 ± 2.26	332.68 ± 2.26	357.69 ± 3.85	368.59 ± 2.94
2.0	262.67 ± 2.31	213.73 ± 3.92	296.08 ± 3.92	321.79 ± 2.22	343.59 ± 2.22
2.5	213.33 ± 2.31	157.52 ± 2.26	244.44 ± 1.13	274.36 ± 2.22	293.59 ± 2.22
3.0	157.33 ± 2.31	96.73 ± 3.00	183.66 ± 2.26	211.54 ± 3.85	226.92 ± 3.85
3.5	98.67 ± 2.30	71.90 ± 3.00	132.68 ± 2.26	171.79 ± 2.22	192.31 ± 3.85
4.0	54.67 ± 2.31	3.27 ± 2.26	97.39 ± 2.26	112.82 ± 2.22	133.33 ± 2.22
4.5	13.33 ± 2.30	0.00 ± 0.00	28.10 ± 2.26	30.77 ± 3.85	12.82 ± 2.22

Datos promedio de 3 determinaciones

ANEXO XIII

Tabla 38. Capacidad de formación de espuma del aislado e hidrolizado proteico de soya en función del efecto iónico (%)

Concentración % (p/v)	AISLADO	Grupo Homogéneo	HIDROLIZADO	Grupo Homogéneo
0.80	219.61 ± 1.96	A	421.57 ± 3.92	A
0.60	215.69 ± 1.96	A	413.73 ± 3.92	B
0.40	207.19 ± 2.26	B	402.61 ± 3.00	C
0.20	219.61 ± 1.96	C	382.35 ± 3.92	D
1.00	173.20 ± 2.20	D	348.37 ± 2.26	E
1.50	157.52 ± 2.26	E	326.14 ± 2.26	F
2.00	147.71 ± 3.00	F	292.16 ± 3.92	G

Letras diferentes por columna indican diferencia significativa (Tuckey 5%)
 Datos promedios de 3 determinaciones

Análisis de Varianza de la espuma en función del efecto iónico del aislado

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	15015.0	6	2502.05	488.57	0.0000
Within groups	71.7099	14	5.12213		
Total (Corr.)	15.0867	20			

Análisis de Varianza de la espuma en función del efecto iónico del hidrolizado

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	4 1626.7	6	6937.78	525.99	0.0000
Within groups	184.658	14	13.1899		
Total (Corr.)	41811.4	20			

Prueba de Significancia de Tukey al 5 % para la capacidad de formación de espuma en función del efecto iónico del aislado e hidrolizado de proteína de soya

Tratamiento	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
1. Hidrolizado	21	366.853	A
2. Aislado	21	188.422	B
Contrast	Difference	+/- Limits	
1 - 2	*-178.431	6.74601	

* denotes a statistically significant difference.

Tabla 39. Estabilidad de espuma del aislado de proteína de soya en función del efecto iónico (%)

Tiempo (h)	Concentración NaCl (%)						
	0.20	0.40	0.60	0.80	1.00	1.50	2.00
0.0	198.04 ± 1.96	207.19 ± 2.26	215.69 ± 1.96	219.61 ± 1.96	173.20 ± 2.26	157.52 ± 2.26	147.71 ± 3.00
0.5	198.04 ± 1.96	206.54 ± 2.30	215.03 ± 1.13	219.61 ± 1.96	173.20 ± 2.26	157.52 ± 2.26	147.71 ± 3.00
1.0	194.77 ± 1.13	201.96 ± 1.96	210.46 ± 1.13	214.38 ± 1.13	169.28 ± 2.26	153.59 ± 2.26	144.44 ± 2.26
1.5	188.24 ± 1.96	196.08 ± 1.96	205.88 ± 1.96	209.15 ± 1.13	164.71 ± 1.96	149.67 ± 2.26	140.52 ± 2.26
2.0	175.16 ± 2.26	190.20 ± 1.96	196.73 ± 2.26	203.92 ± 1.96	158.82 ± 3.92	143.14 ± 3.92	132.68 ± 2.26
2.5	166.01 ± 1.13	183.01 ± 1.13	189.54 ± 1.13	195.42 ± 2.26	152.29 ± 5.99	132.03 ± 1.13	118.95 ± 3.00
3.0	153.59 ± 2.26	172.55 ± 1.96	183.01 ± 1.13	188.24 ± 1.96	142.48 ± 3.00	113.03 ± 1.96	94.77 ± 2.26
4.0	140.52 ± 2.26	154.25 ± 3.00	166.01 ± 1.13	176.47 ± 1.96	130.07 ± 2.26	76.47 ± 4.00	58.17 ± 2.26
5.0	125.49 ± 1.96	138.56 ± 3.00	147.71 ± 3.00	165.36 ± 1.13	88.89 ± 3.00	47.06 ± 1.96	36.60 ± 3.00
6.0	70.59 ± 1.96	103.27 ± 3.00	117.65 ± 1.96	140.52 ± 2.26	58.17 ± 2.26	10.46 ± 3.00	4.58 ± 2.26
7.0	44.44 ± 2.30	69.28 ± 3.00	76.47 ± 4.00	100.00 ± 4.00	19.61 ± 1.96	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
8.0	11.11 ± 2.26	21.57 ± 3.00	38.56 ± 2.26	47.06 ± 1.96	5.88 ± 4.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00

Datos promedio de 3 determinaciones

Tabla 40. Estabilidad de espuma del hidrolizado enzimático de soya en función del efecto iónico (%)

Tiempo (h)	Concentración NaCl (%)						
	0.20	0.40	0.60	0.80	1.00	1.50	2.00
0.0	382.35 ± 3.92	402.61 ± 3.00	413.73 ± 3.92	421.57 ± 3.92	348.37 ± 2.26	326.14 ± 2.26	292.16 ± 3.92
0.5	365.36 ± 2.26	392.81 ± 2.26	407.19 ± 2.26	416.34 ± 2.26	307.84 ± 3.92	296.08 ± 3.92	255.56 ± 2.26
1.0	333.99 ± 2.26	371.90 ± 2.26	391.50 ± 2.26	403.92 ± 1.96	273.86 ± 2.26	266.01 ± 3.00	233.33 ± 3.92
1.5	300.00 ± 3.92	331.37 ± 3.92	352.29 ± 2.26	370.59 ± 3.92	243.79 ± 2.26	205.88 ± 1.96	178.43 ± 3.92
2.0	247.71 ± 2.26	273.86 ± 2.26	313.07 ± 2.26	331.37 ± 3.92	198.04 ± 3.92	158.17 ± 3.00	144.44 ± 2.26
2.5	201.96 ± 3.92	235.95 ± 2.26	268.63 ± 3.92	293.46 ± 2.26	160.13 ± 2.26	114.38 ± 3.00	93.46 ± 2.26
3.0	152.29 ± 2.26	182.35 ± 3.92	203.92 ± 1.96	243.79 ± 2.26	135.29 ± 1.96	98.04 ± 1.96	60.78 ± 3.92
3.5	119.61 ± 3.92	143.14 ± 3.92	154.90 ± 3.92	175.82 ± 2.26	97.39 ± 2.26	57.52 ± 3.00	37.25 ± 3.92
4.0	55.56 ± 2.26	85.62 ± 2.26	115.69 ± 3.92	131.37 ± 3.92	59.48 ± 2.26	4.58 ± 3.92	0.65 ± 3.92
4.5	15.03 ± 2.26	35.95 ± 2.26	60.78 ± 3.92	37.25 ± 3.92	15.03 ± 2.26	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00

Datos promedio de 3 determinaciones

ANEXO XIV

PROCESO DE OBTENCIÓN Y ELABORACIÓN DEL AISLADO
PROTEICO DE SOYA

(a)



(b)



(c)



(d)

Figura 37. Aislado proteico de soya (a) extracción básica a pH 9.5; b) proceso de centrifugado, (c) aislado en pasta; (d) aislado liofilizado y molido

ANEXO XV

PROCESO DE OBTENCIÓN Y ELABORACIÓN DEL
HIDROLIZADO ENZIMÁTICO DE SOYA

(a)



(b)



(c)



(d)

Figura 38. Hidrolizado enzimático de soya: (a) aplicación de la papaína con tiempo de reacción de 20 min; b) aplicación de la flavourzyme con un tiempo de reacción de 40 min, (c) inactivación enzimática a T 90 °C; (d) hidrolizado liofilizado y molido