

**“CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA Y PROPIEDADES
FUNCIONALES DE LA HARINA DESGRASADA Y LA
PROTEÍNA DE LA SEMILLA DE HULE
(*hevea brasiliensis*)”**

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA
Facultad de Ciencias y Humanidades
Departamento de Ingeniería en Ciencia de Alimentos

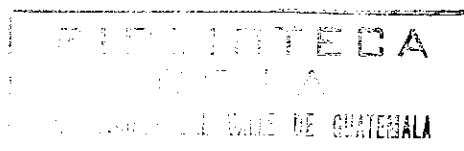


**“CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA Y PROPIEDADES
FUNCIONALES DE LA HARINA DESGRASADA
Y LA PROTEÍNA DE LA SEMILLA DE HULE
(hevea brasiliensis)”**

JOSÉ RICARDO SAMAYOA CARRILLO

Trabajo de investigación presentado para optar el grado académico de:

LICENCIATURA EN INGENIERÍA DE ALIMENTOS



Guatemala
1998

Vo. Bo.:

(f) Ricardo Bressani

Dr. Ricardo Bressani
- Asesor

Tribunal

(f) Patricia de Palomo

Licda. Patricia palacios de Palomo

(f) Ana Silvia Colmenares de Ruiz

Licda. Ana Silvia Colmenares de Ruiz

(f) Ricardo Bressani

Dr. Ricardo Bressani

Fecha de Aprobación: 3 de Noviembre de 1998

A Nuestro Señor por darme la
oportunidad de vivir y ser feliz,

A mis padres y hermanos por la
paciencia y apoyo incondicional,

A mis familiares y seres queridos
que con su apoyo me ayudaron a
lograr mis metas.

INDICE

	Página
PREFACIO	i
LISTA DE CUADROS	ii
LISTA DE GRAFICAS	iii
RESUMEN	iv
I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES	3
III. JUSTIFICACIONES	13
IV. OBJETIVOS	14
V. HIPÓTESIS	15
VI. METODOLOGÍA	16
VII. MATERIAL Y EQUIPO	20
VIII. DISEÑO EXPERIMENTAL	21
IX. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	24
X. CONCLUSIONES	40
XI. RECOMENDACIONES	41
XII. BIBLIOGRAFÍA	42
XIII. ANEXO I METOLOGÍA	47
XIV. ANEXO II CUADROS	49
XV. ANEXO III GRÁFICAS	51
XVI. PROGRAMACIÓN	52

LISTA DE CUADROS

Cuadro	Página
1. CARACTERÍSTICAS DE LA HARINA DESGRASADA Y DE LA SEMILLA DE HULE	49
2. DETERMINACIÓN DE GLUCÓSIDOS CIANOGENÉTICOS EN LA HARINA DESGRASADA "REMOJADA" Y "NO REMOJADA" DE LA SEMILLA DE HULE	27
3. CANTIDAD DE PROTEÍNA Y NITRÓGENO DE LA HARINA DESGRASADA DE LA SEMILLA DE HULE	30
4. FRACCIONAMIENTO DE LA PROTEÍNA DE LA HARINA DESGRASADA DE LA SEMILLA DE HULE	50
5. DETERMINACIÓN DE LA CANTIDAD DE PROTEÍNA DE LA HARINA DESGRASADA DE LA SEMILLA DE HULE A DIFERENTES ESCALAS DE PH	33
6. PROPIEDADES FUNCIONALES DE LA PROTEÍNA DE LA HARINA DESGRASADA DE LA SEMILLA DE HULE	37
7. ESTABILIDAD DE ESPUMA DE LA HARINA DESGRASADA DE LA SEMILLA DE HULE	38

LISTA DE GRÁFICAS

Gráfica	Página
1. COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA HARINA DESGRASADA DE LA SEMILLA DE HULE	25
2. DETERMINACIÓN DE GLUCÓSIDOS CIANOGENÉTICOS EN LAS HARINAS DESGRASADAS DE LA SEMILLA DE HULE	28
3. CANTIDAD DE PROTEÍNA Y NITRÓGENO DE LA HARINA DESGRASADA DE LA SEMILLA DE HULE	31
4. FRACCIONAMIENTO DE LA PROTEÍNA DE LA HARINA DESGRASADA DE LA SEMILLA DE HULE	51
5. DETERMINACIÓN DE LA CANTIDAD DE PROTEÍNA DE LA HARINA DEGRASADA DE LA SEMILLA DE HULE A DIFERENTES ESCALAS DE pH	34
6. ESTABILIDAD DE ESPUMA DE LA PROTEÍNA DE LA HARINA DESGRASADA DE LA SEMILLA DE HULE	39

RESUMEN

A continuación se presentan los resultados del trabajo de investigación de la harina desgrasada y la proteína de la semilla de hule (*hevea brasiliensis*).

Como residuo de la extracción del aceite, se obtuvo una harina fina de color café claro y olor agradable. Se determinó que contiene un 20.75% de proteína, un valor aceptable para la probabilidad de estar frente a una fuente utilizable para el desarrollo de la agroindustria. La harina tiene un contenido de 5.26% de humedad, 10.01% de grasa residual y 3.18% de cenizas.

Los glucósidos cianogenéticos son los únicos resultados que se comparan entre la harina "remojada" (0.432mg) y la harina "no remojada" (0.648mg). Se determinó que el tratamiento de remojo cumple la función de disminuir los niveles de glucósidos cianogenéticos tóxicos para el ser humano.

Se determinó la solubilidad de la proteína en diferentes soluciones con agua, cloruro de sodio, alcohol etílico e hidróxido de sodio, siendo este último, donde mayor solubilidad de proteína se presentó (40.59%). Por lo que se determinó el contenido de albúminas, globulinas y glutelinas. El punto isoeléctrico de la proteína se dio en una solución de pH= 4, en donde se produce la mayor precipitación de proteína.

Finalmente, se hizo un aislado proteico para la determinación de sus propiedades funcionales. Estas propiedades dieron como resultado una buena absorción de agua 2.21gr gel/gr muestra, absorción de aceite 1.45gr gel/gr muestra, capacidad de espuma 10ml y estabilidad de espuma.

I. INTRODUCCIÓN

Luego de varias investigaciones de la caracterización fisicoquímica de la semilla de hule (*Hevea brasiliensis*) como fuente de aceite, ha surgido el interés y la necesidad, en la población de Guatemala, de estudiar el residuo obtenido de la extracción de aceites de la semilla de hule como nueva fuente de valor nutricional para la alimentación. Actualmente se está desperdiciando las semillas, debido que el único uso que se les da, es la formación de almácigos para nuevas o reposición de siembras de árboles de hule. Existen 37,500 hectáreas cultivadas de árboles en Guatemala, y con ello una gran disponibilidad de semillas. Se pretende, con el siguiente estudio de investigación, hacer una caracterización y obtención de una harina desgrasada a partir de la semilla de hule. La caracterización fisicoquímica consiste en hacer el análisis de masa, humedad, cenizas, aceite residual, nitrógeno y valor proteico. El fraccionamiento de la proteína es un objetivo importante de esta investigación, ya que no existe ningún estudio referente al fraccionamiento de la harina desgrasada de la semilla de hule. Si se determina la existencia de proteína en la harina, el fraccionamiento de la proteína se lleva a cabo por medio de solubilidad con agua, cloruro de sodio, alcohol etílico e hidróxido de sodio. Los resultados obtenidos dan la distribución de la proteína en forma de albúminas, globulinas, prolaminas y glutelinas.

Otro análisis a realizar es la determinación de un aislado proteico a partir de la solubilidad con Hidróxido de sodio, la determinación de pH y el punto isoeléctrico.

Se ha determinado la existencia de linamarina en la semilla, que es un compuesto cianogenético que forma ácido cianhídrico (HCN), factor tóxico para el ser humano. Por el método de Cooke, se determina la cantidad presente de glucósidos cianogenéticos en el aislado proteico de la harina desgrasada.

Las propiedades funcionales ayudan a determinar si la proteína de la harina desgrasada puede ser funcional en algún sector agroindustrial. Se hace un estudio de las propiedades funcionales de la harina de la semilla de hule y se comparan los resultados con las propiedades funcionales de la soya, debido a que la soya es un alimento de alta calidad alimenticia. El análisis cualitativo y la pureza de la proteína de la harina, se hace mediante el método de electroforesis, el cual consiste en la migración de muchas moléculas ionizadas hacia el polo de carga contraria.

II. ANTECEDENTES

A. Hevea brasiliensis

El árbol de hule (*hevea brasiliensis* Muell Arg), pertenece al orden de las euforbiáceas y son dos los tipos más conocidos: el árbol de hule de Pará (*Hevea brasiliensis* Muell Arg) y el Ceará (*Manihot gasiovii*), ambos de origen brasileño. Sin embargo, se sabe que existen siete u ocho especies de género de hevea, siendo el más importante el *hevea brasiliensis* (Polhamus, 1962).

El *hevea brasiliensis* es un árbol robusto que a los ocho años de edad alcanza una altura aproximada de 15 metros y una circunferencia en el tronco, de cerca de 0.6 metros (Selle, 1982). Esta planta es cultivada para obtener, por incisiones en su corteza, el látex que es la materia prima para la producción de caucho o hule natural. En el año de 1876 Inglaterra inició el cultivo del árbol de hule en el Lejano Oriente a partir de almácigos de semillas obtenidas en el Brasil, siendo hoy en día la región donde se produce la mayor cantidad de hule en el mundo (Hill, 1937).

El árbol de hule (*hevea brasiliensis*) está siendo cultivado en áreas de trópico húmedo, como por ejemplo en el Lejano Oriente, África y Sur América (Polhamus, 1962). Para ser más específico, se cultiva en las regiones de Tailandia, Malasia, Indonesia, Sri Lanka (Selle, 1982), Liberia y Nigeria (Fetuga et al, 1977). Actualmente, en ciertos lugares de estas regiones, se extrae el aceite de la semilla y se utiliza como agente secante y el residuo lo utilizan para alimentar animales y en algunas ocasiones humanos (Hill, 1937). El estudio más reciente, hecho con animales fue el de alimentar pollos con diferentes cantidades de proteína proveniente de la semilla de hule. Los mejores resultados en peso y tamaño de los pollos se dan cuando se agrega un 15% de ración de semilla de hule al alimento de los pollos (López, 1984). La semilla de hule (*hevea brasiliensis*) ha sido usada como un ingrediente energético-proteico, debido a los reportes de valor nutritivo favorables, (Fetuga et al, 1977).

En el año de 1899, el Gobierno de Guatemala tuvo noticias acerca del caucho como cultivo de importancia mundial y fuente de riquezas. Con el propósito de generar divisas e ingresos, se emitió una ley para ayudar al incremento del cultivo. Lamentablemente, por falta de información y orientación técnica, se propagó el cultivo de un hule criollo (castilloa elástica), el cual es completamente diferente al hule de *Hevea brasiliensis*. Se sabe que en las fincas El Baúl y Velásquez en el Departamento de Escuintla, se sembraron más de 70,000 árboles de *Castilloa* (Ovalle, 1983).

Actualmente, el hule de *Castilloa* se utiliza para la fabricación de ponchos, ahulados, pelotas y baquetas para instrumentos de percusión (Ovalle, 1983).

En 1940, se organizó un sistema científico mundial para la industria del hule hevea, siendo patrocinados por los gobiernos y compañías caucheras. Se iniciaron los estudios sobre suelos y otros factores en Guatemala por parte de una comisión de técnicos norteamericanos. Esto trajo como consecuencia, establecer almácigos de hule hevea en la finca Chitalón, Las Animas, El Rosario, Parraxé y Trapiche, Departamento de Suchitepequez; San Fernando, Santo Tomás, El Bálsamo, El Baúl y Buena Vista, Departamento de Escuintla y Cubilguitz, Departamento de Alta Verapaz (Ovalle, 1983).

En 1941, en acuerdo cooperativo entre Guatemala y Estados Unidos, se importaron más de 300,000 semillas de hule procedentes de Lancetilla, Honduras. Estas semillas fueron distribuidas entre 13 fincas situadas en el litoral del Pacífico. En 1955, era grande el entusiasmo e interés de muchos finqueros por hacer plantaciones, por lo tanto ese mismo año se construyó un almácigo de 350,000 plantas que se injertaron al año siguiente y fueron vendidas a los agricultores interesados (Ovalle, 1983).

Actualmente, el cultivo de hule hevea está en pleno auge en Guatemala, generando empleos y divisas para el país ya que exporta más del 85% de su producción. Se tienen cultivadas más de 37,500 hectáreas en todo el país, con una distribución del 85% en la costa sur y un 15% en la región norte. Del área cultivada, tan solo un 54% está en la fase productiva y un 46% en la fase de crecimiento. De estas plantas en crecimiento la gran mayoría consisten de clones nuevos más productivos. La producción nacional de hule en el año de 1996 fue de 33,600 toneladas aproximadamente. Se estima que para el año 2000 la producción de hule sea cercana a las 50,000 toneladas (Gremial de Huleros de Guatemala, 1997).

Guatemala actualmente produce tan solo el 0.5% de la producción mundial, y se sitúa como el único país exportador de hule en el continente (Gremial de Huleros de Guatemala, 1997).

El fruto del árbol de hule (*hevea brasiliensis*) contiene tres semillas. Las semillas son de color café oscura y una cáscara lisa. La almendra está recubierta de una capa con fibras semejantes a las de la semilla de algodón (Ayuso, 1974).

Debido a las características semisecantes de la semilla del árbol de hule (*hevea brasiliensis*), se ha adquirido una importancia grande en la industria de pinturas y en la producción de la torta prensada para ganado como fuente de alimento proteico (Lottman, 1981).

En Guatemala, la semilla es utilizada para la preparación de semilleros para la propagación de la planta, lo que significa que una pequeña cantidad de la semilla es utilizada y el resto desperdiciada (Ayuso, 1974).

La florescencia del árbol de hule, se inicia en la segunda quincena de enero y termina en abril. Después de seis meses transcurridos, se da la fecundación de la flor y se obtienen semillas maduras, lo que quiere decir que las primeras

semillas empiezan a caer del árbol durante la segunda quincena del mes de julio hasta octubre (Ovalle, 1983).

Las naciones de Indonesia, (Lauw et al, 1967), Estados Unidos (Orok, 1974) Nigeria (Fetuga et al, 1977) y Guatemala (Rosal, 1970, Lottman, 1982) han tenido el interés en estudiar la composición química de la semilla de hule. Ha quedado establecido que la semilla de hule contiene una cantidad razonable de proteína y un porcentaje alto de aceite con propiedades secantes. Otro compuesto presente en la semilla de hule que discutiremos más adelante es el HCN, muy tóxico (Selle, 1982).

La composición química de la semilla de hule sin cáscara depende de la variedad de la especie, de las condiciones del clima y suelo en que vive la planta. También se sabe que la semilla es fuente de fósforo, calcio, potasio, cinc y hierro. Los aminoácidos mas importantes son lisina y metionina principalmente (Selle, 1982). Se muestran dos análisis diferentes de la semilla: humedad 45%, proteína 9%, fibra cruda 3% y cenizas 2% (Ayuso, 1974). Los otros resultados obtenidos sobre 100 gramos de semilla son: agua 8.5 gr, proteína 17.6 gr, grasa 48.5 gr, carbohidratos totales 22.9 gr, cenizas 2.5 gr, calcio 120 mgr y fósforo 430 mgr. Según J. A. Duke (1983), "las hojas están compuestas por α -y- γ -tocofenol y plastacromanol-S, ubiquinone y vitexin".

Las semillas de hule están compuestas con un 25 % de aceite o ácidos polisaturados, por lo que es posible utilizar el aceite para la alimentación. La composición química del aceite es: palmítico 7%, esteárico 9%, oleico 30%, linoleico 30-50% y ácido linoleico 2-23% (Horammer, 1979). Otra característica del aceite es que es semisecante, ideal para la industria de pinturas (Lottman, 1981).

B. Glucósidos Cianogenéticos

El aceite de la semilla de hule también contiene glucósidos cianogenéticos. Este es la linamarina ($C_{10}H_{17}NO_6$), que al hidrolizarse, proceso de rompimiento de la estructura molecular a través de un reactivo, se libera una gran cantidad de HCN (Lottman, 1981) (Butler, 1965). Para disminuir los niveles de estos compuestos tóxicos se recomienda aplicar un tratamiento de remojo y térmico a las semillas, como se ha hecho con otros productos, como la yuca, que también presentan presencia de linamarina (Cooke, 1978) (Selle, 1982).

La presencia de glucósidos cianogenéticos está relacionada con la semilla de hule según otros estudios realizados en diferentes partes del mundo (Lottman, 1981). Por esto, que a la harina desgrasada de la semilla de hule, se debe determinar los glucósidos cianogenéticos utilizando el método de Cooke para descartar el peligro de una intoxicación al incluir la harina en la nutrición animal (Selle, 1982). Se ha podido detectar la presencia de linamarina en la semilla de hule, la cantidad fue aproximadamente de 91 μg HCN/gr. de tejido fresco. La enzima que mejor hidroliza la linamarina es la β -glicosidasa linamarasa. Existen otras β -glicosidasa que hidrolizan, pero más lentamente (Butler, 1965). Además de estar presenta la linamarina en la semilla de hule, también se encuentra en los frijoles lima, yuca y algunas especies de los géneros *linum* y *lotus* (Butler, 1965).

Los glucósidos cianogenéticos dan origen a HCN. Es decir, que, al hidrolizarse el glucósido cianogenético, se obtiene un sacárido y una aglicona que es un α -hidroxinitrilo, el cual da al hidrolizarse HCN y un aldehído o cetona (Conn y Butler, 1969).

Se sabe que los glucósidos cianogenéticos son poco solubles en agua y muy estables ante el calor (Montgomery, 1980). Los glucósidos más comunes en vegetales son: prunasina, durina, amigdalina, linamarina, sabunigrina, vicianina y ginocardina (Conn, 1969).

Generalmente los glucósidos cianogénéticos son aislados de los materiales molidos por extracción con solvente. El extracto se lleva a ebullición para la desactivación de las enzimas hidrolíticas (Selle, 1982).

El único tratamiento efectivo aplicable a las plantas para la reducción de los cianogénéticos es un tratamiento genético, ya que el contenido de los cianogénéticos está controlado por interacciones fisiológicas muy complejas (Butler et al, 1973).

La dosis letal de HCN para humanos adultos es de 50-60 mg o bien de 0.5-3.5mg/kg de peso corporal. Para los animales, varía dependiendo de la especie. Los mamíferos no tienen enzimas digestivas capaces de hidrolizar los glucósidos cianogénéticos, pero se cree que existen unas bacterias en el tracto digestivo, capaces de producir enzimas que hidrolizan los glucósidos cianogénéticos (Conn, 1973). El mayor efecto de los glucósidos cianogénéticos en el organismo es la interrupción de la cadena respiratoria celular, la cual ocurre en las mitocondrias (Selle, 1982).

Existen varios mecanismos de desintoxicación de cianuros donde intervienen diferentes enzimas, como la rodanasa, la piruvato, la cistina y la cianocobalamina. Por medio de la rodanasa se hace la conversión del ion cianuro al ion tiocianato. Este tipo de enzima se encuentra en las mitocondrias de todo el cuerpo, sobre todo en el hígado y los riñones (Bourdoux, 1980). Es importante notar que para los mecanismos de desintoxicación de cianuros, los aminoácidos azufrados son esenciales (Selle, 1982).

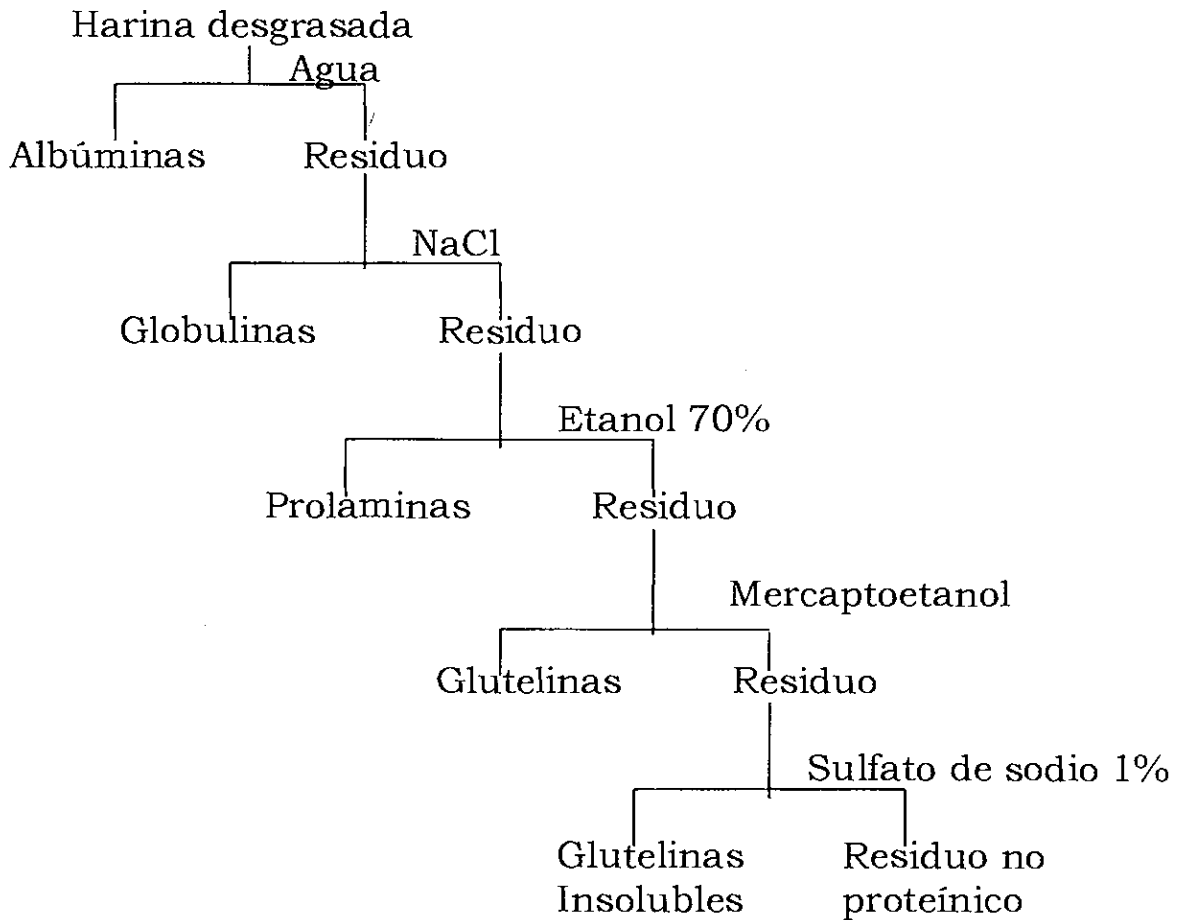
El método más sencillo para la determinación de cianuros, es el método de Cooke, el cual fue aplicado en la yuca que contiene linamarina igual que la semilla de hule, por lo que se utiliza el mismo método para los glucósidos cianogénéticos presentes en la semilla de hule (Lottman, 1981).

C. Fraccionamiento de las proteínas

Por medio de la solubilidad, las proteínas se han clasificado en albúminas, globulinas, histonas, glutelinas, prolaminas y escleroproteínas. La solubilidad depende del tipo de aminoácido que contenga. Este método de solubilidad implica que las moléculas estén separadas y dispersas en el disolvente y que produzcan una interacción con el líquido que las rodea (Badui, 1995).

Las albúminas corresponden a la clasificación de proteínas simples y son solubles en soluciones salinas diluidas y en agua; las globulinas son insolubles en agua pero solubles en soluciones salinas diluidas; las histonas contienen una elevada cantidad de aminoácidos básicos y por ser solubles en ácidos y en agua, tienen poca importancia en los alimentos por su escasez; las glutelinas son insolubles en agua, en etanol y en soluciones salinas y sólo se solubiliza en ácidos (pH 2) o en álcalis (pH12); las prolaminas sólo se solubilizan en etanol al 50-80% y las escleroproteínas son insolubles en todos los disolventes ya que presentan grado de cristalinidad (Badui, 1995).

A manera de ejemplo se presenta el procedimiento de laboratorio para llevar a cabo el fraccionamiento de las proteínas del maíz.



(Badui, 1995).

D. Solubilidad de las proteínas

Las diversas solubilidades de las proteínas, en los diferentes disolventes, dependen de factores intrínsecos fisicoquímicos propios del polímero (Badui, 1995). La solubilización establece una unión entre la proteína y el disolvente los cuales pueden ser afectados por los siguientes factores:

- 1) Efecto de las sales
- 2) Efecto del pH
- 3) Efecto de los disolventes
- 4) Efecto de la temperatura

La solubilidad tiene como función el reflejo de muchas de las propiedades funcionales que desarrollan las proteínas (Badui, 1995).

E. Propiedades funcionales de las proteínas

En los últimos años se han desarrollado técnicas para determinar las diversas funciones que pueden tener las proteínas para su uso comercial en la fabricación de nuevos u otros alimentos. Las propiedades funcionales se definen como cualquier propiedad fisicoquímica de los polímeros que afecta y modifica algunas características de un alimento y que contribuye a la calidad final del producto (Badui, 1995). Estas propiedades funcionales pueden ser la hidratación, el espumado, la emulsificación, la gelificación y actividad acuosa.

El estudio de las propiedades funcionales de la proteína se realiza con la proteína en su estado natural, ya que puede haber diferentes resultados si se presenta la desnaturalización en las proteínas (Badui, 1995). En el cuadro siguiente se presentan las propiedades funcionales de las proteínas empleadas en los alimentos.

<i>Propiedad</i>	<i>Función</i>
Hidratación	Solubilidad, dispersión, absorción de agua, espesante, gelificante, viscosidad y formación de masas
Estructural y reológica	Elasticidad, cohesión, formación de redes tridimensionales, formación de fibras, viscosidad, agregación y gelificación
Sensorial	Color, sabor, olor, textura, turbidez, arenosidad
Superficie	Emulsificación, estabilización, espumante,

(Badui, 1995).

F. Electroforesis

El fenómeno de electroforesis se emplea para la clasificación cualitativamente de los polipéptidos así como para determinar su pureza. Este método consiste en la ionización de muchos polímeros de interés, que sometidos en un campo eléctrico, migran hacia el polo de carga contraria.

Para llevar a cabo el método de electroforesis se emplean varios agentes químicos para disociar las proteínas y convertirlas en sus monómeros más simples (Badui, 1995).

III. JUSTIFICACIÓN

En Guatemala existe un gran número y variedad de plantas sin conocer sus características y propiedades funcionales. Esta falta de información nos limita a no tener nuevas fuentes de materia prima para la elaboración de productos agroindustriales.

Para lograr estas nuevas fuentes de materia prima, es necesario hacer los análisis fisicoquímicos, de toxicidades y así conocer el potencial de utilización para el desarrollo económico del país.

Por lo tanto, en busca de nuevas materias primas, considero que la harina desgrasada de la semilla de hule (*hevea brasiliensis*) puede ser una fuente de valor proteico para la agroindustrial. La semilla abunda en Guatemala, ya que existe actualmente 37,500 hectáreas sembradas y solamente son utilizadas para la formación de almácigos y una gran cantidad es desperdiciada.

Se han hecho estudios en años anteriores acerca de la composición química y valor nutritivo de la semilla de hule y hay muchos aspectos importantes que no se han estudiado y es necesario investigar. Se ha determinado que el aceite de la semilla de hule es un agente semisecante con propiedades aplicables en la industria de pintura.

Por lo tanto, es importante el analizar el residuo obtenido a partir de la extracción de aceite con el reactivo hexano y el método de Soxhlet el cual consiste en la extracción de grasas por medio de disolventes sometándose a un calentamiento. Este residuo se transforma en la harina desgrasada y si las pruebas químicas y la evaluación nutricional indica alta calidad nutritiva y ausencia de toxicidad, se estará frente a una nueva fuente alimenticia de alto rendimiento y bajo costo.

IV. OJETIVOS

A. GENERALES

Ampliar los conocimientos sobre las proteínas de la harina desgrasada de la semilla de hule (*hevea brasiliensis*).

B. ESPECIFICOS

- 1) Conocer la distribución de las fracciones proteicas que conforman la proteína total de la harina de la semilla de hule (*hevea brasiliensis*).
- 2) Preparación de un concentrado proteico de la harina de hule por extracción alcalina y precipitación al punto isoeléctrico.
- 3) Observación de los glucósidos cianogenéticos presentes en la harina y estructuras proteicas.
- 4) Establecer las propiedades funcionales del concentrado proteico en la semilla de hule.

V. HIPÓTESIS

“La proteína de la harina de la semilla de hule (*hevea brasiliensis*), contiene albúminas, globulinas, prolaminas, glutelinas y glucósidos cianogénéticos”

VI. METODOLOGÍA

A. Recepción de la materia prima

La semilla se recolecta en costales de una finca localizada en Retalhuleu.

B. Clasificación y limpieza de la materia prima

La semilla es limpiada en forma manual y se clasifica por tamaño, para que las semillas sean lo más homogéneas posibles. Se utilizan aproximadamente 25 kg de semillas.

C. Determinación de la masa del fruto y la cáscara

Con el fin de conocer la rentabilidad de la semilla de hule, se determina la masa del fruto y la cáscara. Se toman al azar varias semillas del costal y se obtiene un promedio de los pesos.

D. Determinación de la Humedad de la Semilla de hule (AOAC 27.005, 1975).

Se determina la humedad de la semilla por diferencia de peso. Para ello se necesita someter la semilla a un horno a 60 °C.

E. Preparación de dos harinas de la semilla de hule

De los 25 kg de semillas, la mitad es para preparar una harina remojada en agua, la cual se llama "harina A". El resto de las semillas es para preparar una harina no remojada en agua, la cual se llama "harina B".

F. Remojo de las semillas (harina A)

Para reducir el nivel de glucósidos cianogénicos, se aplica a 12 kg (aprox.) de semillas de hule un remojo de veinticuatro horas con agua desionizada en recipientes abiertos. Luego se secan las semillas en un horno a 60 °C por veinte horas aproximadamente.

G. Extracción del aceite a la semilla

Luego de ser fraccionada las semillas para la preparación de a "harina A y B" por un molino, se hace la extracción de aceite por medio de Soxhlet y utilizando hexano como solvente.

H. Recepción, molienda y tamiz del residuo

El residuo obtenido de la extracción de aceite se somete a un molino de nixtamal, para obtener una materia prima lo más homogénea posible y, como resultado, una harina desgrasada, cuya semilla, fue remojada en agua (harina A) y una harina que no fue remojada en agua (harina B). Para obtener una harina fina se lleva a un tamiz vibratorio por lo que se obtiene una distribución de partículas de harinas de diferentes grosores. Se cuantifica las harinas en cada tamiz y obtenemos la harina más fina para la determinación de la calidad de la proteína.

I. Determinación de humedad de la harina (AOAC 27.005, 1975).

Se obtiene la humedad colocando las harinas A y B en un horno a 60 °C y se calcula el resultado por diferencia de peso.

J. Determinación de Cenizas (AOAC 5.49, 1975).

Se somete las harinas a un horno, obteniendo una cuantificación de cenizas. Esta cuantificación se compara con el resultado de una mufla.

K. Determinación de aceite (AOAC 27.006, 1975).

Por medio de Soxhlet y hexano como solvente, se hace una extracción de aceite para obtener cuánta grasa contienen las harinas desgrasadas.

L. Determinación de proteína (AOAC 14.067, 1975)

El método Kjeldahl determina el valor de nitrógeno y las propiedades nutritivas de las harinas a través de una reacción con ácido sulfúrico. Se cuantifican los resultados de las semillas de hule y se comparan con los resultados de otras semillas.

M. Fraccionamiento de la proteína

Por medio de la solubilidad de la proteína se sigue el siguiente método:

- 1) Pesar 5 gramos de harina desgrasada y colocarlo en un matraz erlenmeyer de 125 cc.
- 2) Agregar al matraz erlenmeyer 30 ml de agua destilada y agitar por una hora.
- 3) Centrifugar y separar el residuo sólido del líquido.
- 4) Al residuo agregarle otros 30 ml de agua destilada y repetir los pasos dos y tres.
- 5) Unir la parte líquida y medir el volumen resultante.
- 6) Determinar el contenido de Nitrógeno y proteína por el método de Kjeldahl.

Repetir los pasos 2,3,4,5 y 6, utilizando el mismo residuo sólido que se obtuvo al inicio, cambiando la solución por las siguientes soluciones respectivamente:

- a) Cloruro de sodio al 5% (NaCl)
- b) Alcohol Etílico al 70%
- c) Hidróxido de sodio al 0.2% (NaOH)

Se realiza el fraccionamiento por separado para harina A y B.

N. Determinación de la proteína en el residuo (AOAC 14.067, 1975).

Se analiza la cantidad de nitrógeno y proteína en el residuo de cada harina, con el objeto de conocer la cantidad de proteína que queda en el residuo y estimar lo que fue solubilizado.

Ñ. Solubilidad en hidróxido de sodio

Se determina la solubilidad de la proteína en hidróxido de sodio obteniendo un aislado proteico y el porcentaje que de la muestra total corresponde a ese valor.

O. Determinación del pH

Se determina el pH de la proteína.

P. Determinación del punto isoeléctrico

Cambiando los valores del pH a la solución se determina el punto isoeléctrico de la proteína en la harina. Además se hace el análisis de nitrógeno y proteína a cada solución con diferente pH.

Q. Determinación de glucósidos cianogenéticos (AOAC 26.151, 1975).

Se determina, a ambas proteínas de las harinas, los glucósidos cianogenéticos por el método de Cooke produciendo una reacción modificada de cloamina-t, piridina y pirazolano.

R. Determinación de las propiedades funcionales (Sosulski 1962, Beuchat 1975, Hoffman 1975).

Las propiedades funcionales a analizar en la harina desgrasada de la semilla de hule (*hevea brasiliensis*) son: solubilidad según el pH; absorción de agua; absorción de aceite; actividad de la emulsión y la estabilidad de la emulsión.

S. Determinación del peso molecular de la proteína

El análisis del peso molecular de la proteína de la semilla de hule (*hevea brasiliensis*), se hace mediante el método de electroforesis, el cual consiste en la migración de polímeros ionizados, en contacto con un campo magnético, hacia el polo de carga contraria.

VII. MATERIAL Y EQUIPO

A. Equipo de laboratorio

- 1) Estufa
- 2) Molino
- 3) Tamiz
- 4) Licuadora
- 5) Aparato de extracción Soxhlet
- 6) Horno
- 7) Mufla
- 8) Balanza analítica
- 9) Balanza de triple brazo
- 10) Centrífuga
- 11) Potenciómetro
- 12) Refractómetro
- 13) Cristalería de uso común en el laboratorio

B. Reactivos

- 1) Linamarina
- 2) Hexano
- 3) Reactivos convencionales para efectuar las pruebas químicas

VIII. DISEÑO EXPERIMENTAL

A. Unidad experimental

Para los diferentes análisis a realizar sobre la harina desgrasada y la proteína de la semilla de hule (*hevea brasiliensis*), se llevará a cabo en el Laboratorio de Ingeniería de Alimentos de la Universidad del Valle de Guatemala.

Se hará uso de todo el equipo disponible en el laboratorio así como los manuales de funcionamiento de los mismos equipos.

B. Tamaño de la muestra

Para la determinación de la masa del fruto y la cáscara, se tomaran tres lotes de 250 semillas pesadas en una balanza analítica con y sin cáscara. Se determina con tres repeticiones de 5 gramos de semilla cada uno, y por diferencia de peso, la humedad de la semilla de hule.

Para el remojo de 20 horas, se toma 12 kg de semilla descascarada (harina "A"), en agua purificada. Luego se seca la semilla de la harina "A", para ser llevada al molino junto con la semilla de la harina "B" que no fue remojada. Se lleva a un molino en cuatro o más fracciones por separado, ambas harinas y tamizado. Se toman las harinas para la extracción de aceite durante 8 a 12 horas aproximadamente y por diferencia de peso se obtiene el porcentaje de aceite. El residuo total de la extracción se pasa por un molino de nixtamal y tamizado por una hora. Se calcula obtener 10 Kg aproximadamente de cada harina, debido a las diferentes pérdidas de muestra durante el proceso de molienda y tamizado.

Cada análisis de laboratorio se hace con tres muestra de harina y los pesos de las muestras menores a 5 gramos. Para el fraccionamiento de la proteína se utilizaran 5 gramos de harina con tres repeticiones. La solubilidad y la determinación de la proteína en el residuo, se hace con la mayor cantidad de harina disponible para obtener gran cantidad del aislado proteico.

Para el pH y el punto isoeléctrico, se hacen combinaciones desde 2 pH hasta 10 pH. Este proceso se realiza a tres repeticiones.

El análisis de glucósidos cianogenéticos se llevará en repeticiones de dos, debido a que es un proceso largo y seguro, que si se lleva a cabo con las precauciones recomendadas, no se tiene ningún problema en la obtención de los resultados.

El análisis de las propiedades funcionales y la determinación del peso molecular de las harinas, se llevan a cabo en varias repeticiones por ser un proceso fácil de aplicar y propenso a obtener diferentes resultados.

C. Análisis estadístico

Debido a que se harán varias repeticiones en cada determinación fisicoquímica de las harinas, es necesario aplicar métodos estadísticos para obtener resultados lo más cercanos a la realidad. Los métodos estadísticos a realizar en las determinaciones experimentales son, medidas de desviación y varianza.

Por mucho que se tenga cuidado en la medición de un fenómeno, siempre existirán resultados diferentes. Uno de los problemas que confronta la estadística es, precisamente la de los estudios de variación; los métodos para medirla y la determinación de la posible causa. La medida de variación, constituye un complemento necesario de un promedio, ya que

cuando menos se alejen las medidas de variación de un promedio, mejor será su calidad en cuanto a su homogeneidad. Entre dichas medidas tenemos la desviación estándar que se calcula de la siguiente manera:

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum(x - U)}{N}}$$

x = valor de cada dato

\sum = sumatoria

U = promedio aritmético

N = número de casos

La varianza es otra medida de dispersión de los valores en cada grupo particular. La varianza de una muestra de n observaciones se define como la suma de los cuadrados de las desviaciones de las muestras con respecto a su media y dividida entre (n - 1). La varianza muestral se denota por "s" y está dada por la formula

$$s = \frac{\sum(x_1 - X)}{N - 1}$$

x1... = valor de cada dato

\sum = sumatoria

X = media

N = número de casos

Los resultados se presentan en forma de cuadros y gráficas de barras para facilitar la interpretación y comparación entre las harinas. Debido a que se analizan varias muestras, se calculan las incertidumbres de los equipos a utilizar que puedan tener un valor significativo en los resultados.

IX. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

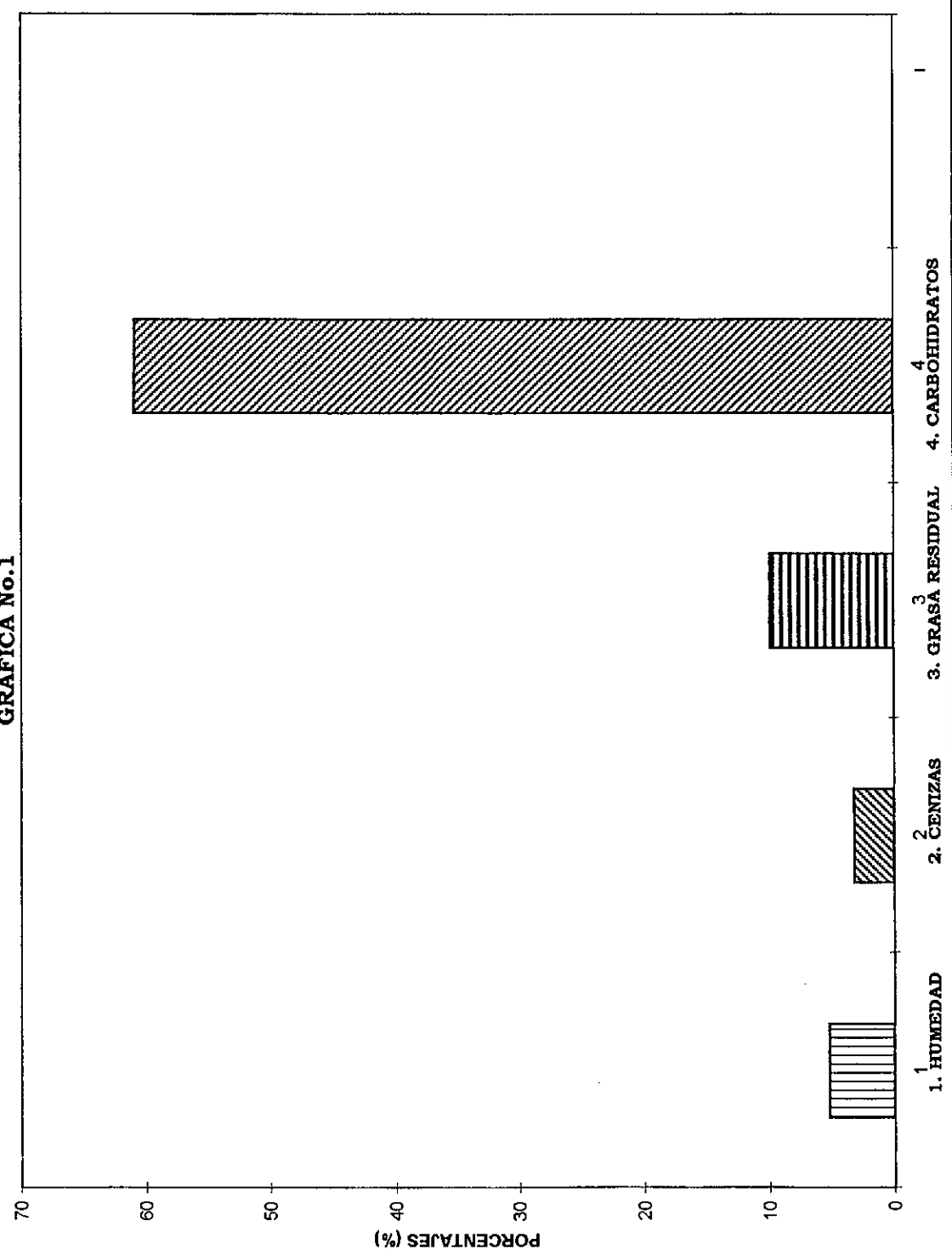
A. Caracterización física y química de la semilla de hule /

Se colectaron aproximadamente 250 semillas lo más homogéneas posible para la determinación del porcentaje de cáscara (56%) y almendra (44%) (vid. Cuadro No.1 Anexo II). También se determinó la humedad, sometiendo las semillas a un tratamiento térmico en un horno al vacío y con diferencia de peso se obtuvo que fue de 31.5% (vid. Cuadro No.1 Anexo II). Luego de clasificar y descascarar las mejores semillas, se tomó la mitad de ellas para remojar con agua durante 24 horas, con el fin de producir una germinación y así disminuir los niveles de glucósidos cianogénicos. Los resultados de remojar la semilla se discuten a continuación.

Al hacer la extracción de aceite, el resultado es un residuo de color café claro. Para la evaporación del hexano, los residuos se sometieron a un proceso de aireación con intervalos de agitación. Luego de moler los residuos, se obtuvieron dos harinas finas (una remojada y otra no remojada) con un color café claro y un olor agradable. Ambas harinas se llevaron a un proceso de tamizado para la separación de basura y una mejor distribución de partículas. Los resultados fueron 425.52gr de harina la "no remojada" y 387.60gr de harina la "remojada". (vid. Cuadro No.1 Anexo II o Gráfica. No.1).

La humedad de las harinas (5.26%) se determinó en el horno al vacío y por diferencias de pesos. Para la determinación de cenizas (3.18%), se quemaron muestras de la harina en una mufla y también por diferencia de pesos se obtuvo el resultado. El resultado de la grasa residual (9.91%) nos indica que la extracción del aceite con hexano fue satisfactoria, debido a que las semillas de hule contienen aproximadamente un 47% de aceite. Sin embargo, sería necesario en futuros estudios trabajar las harinas completamente sin grasa.

**COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA HARINA
DESGRASADA DE LA SEMILLA DE HULE
GRÁFICA No.1**



B. Glucósidos cianogénicos

En estudios anteriores se ha determinado la presencia de glucósidos cianogénicos en la semilla de hule (*hevea brasiliensis*) y se ha concluido que, por un tratamiento de remojo o térmico, se disminuyen los niveles de HCN, los cuales son tóxicos para la salud humana. En los resultados de los glucósidos cianogénicos es donde se compara la harina "no remojada" y la harina "remojada".

La harina "no remojada" obtuvo un resultado de mayor nivel de ácidos cianhídricos (0.648 mg HCN/gr muestra) que la harina "remojada" (0.432 mg HCN/gr muestra). Esta diferencia es significativa y es lo que esperaba como resultado. También se observa la cantidad de HCN en 100 gramos de muestra con la harina "no remojada" 4.32mg y con la harina "remojada" 2.88mg (vid. Cuadro No.2 o Gráfica. No.2).

Para que una persona ingiera una dosis letal de HCN necesita aproximadamente 1.15Kg de muestra de harina "no remojada" y 1.73Kg de muestra de harina "remojada".

CUADRO No.2
DETERMINACIÓN DE GLUCOSIDOS CIANOGENÉTICOS
EN LAS HARINAS DESGRASADAS
“REMOJADA” Y “NO REMOJADA”
DE LA SEMILLA DE HULE
(hevea brasiliensis)

ESTILO DE LA HARINA	mg HCN/gr muestra	mg HCN/100gr muestra
NO REMOJADA	0.648 ±0.000	4.316 ±0.0071
REMOJADA*	0.432 ±0.000	2.875 ±0.0071

* La semilla fue remojada en agua por 24 horas.

**DETERMINACIÓN DE GLUCÓSIDOS CIANOGENÉTICOS EN LAS HARINAS
DESGRASADAS DE LA SEMILLA DE HULE
GRÁFICA No.2**



C. Proteína y el fraccionamiento de la proteína

Por el método de Kjeldahl, las harinas demostraron contener 20.75% de proteína (Nx 6.25) y 3.32% de nitrógeno (vid. Cuadro No.3 o Gráfica No.3).

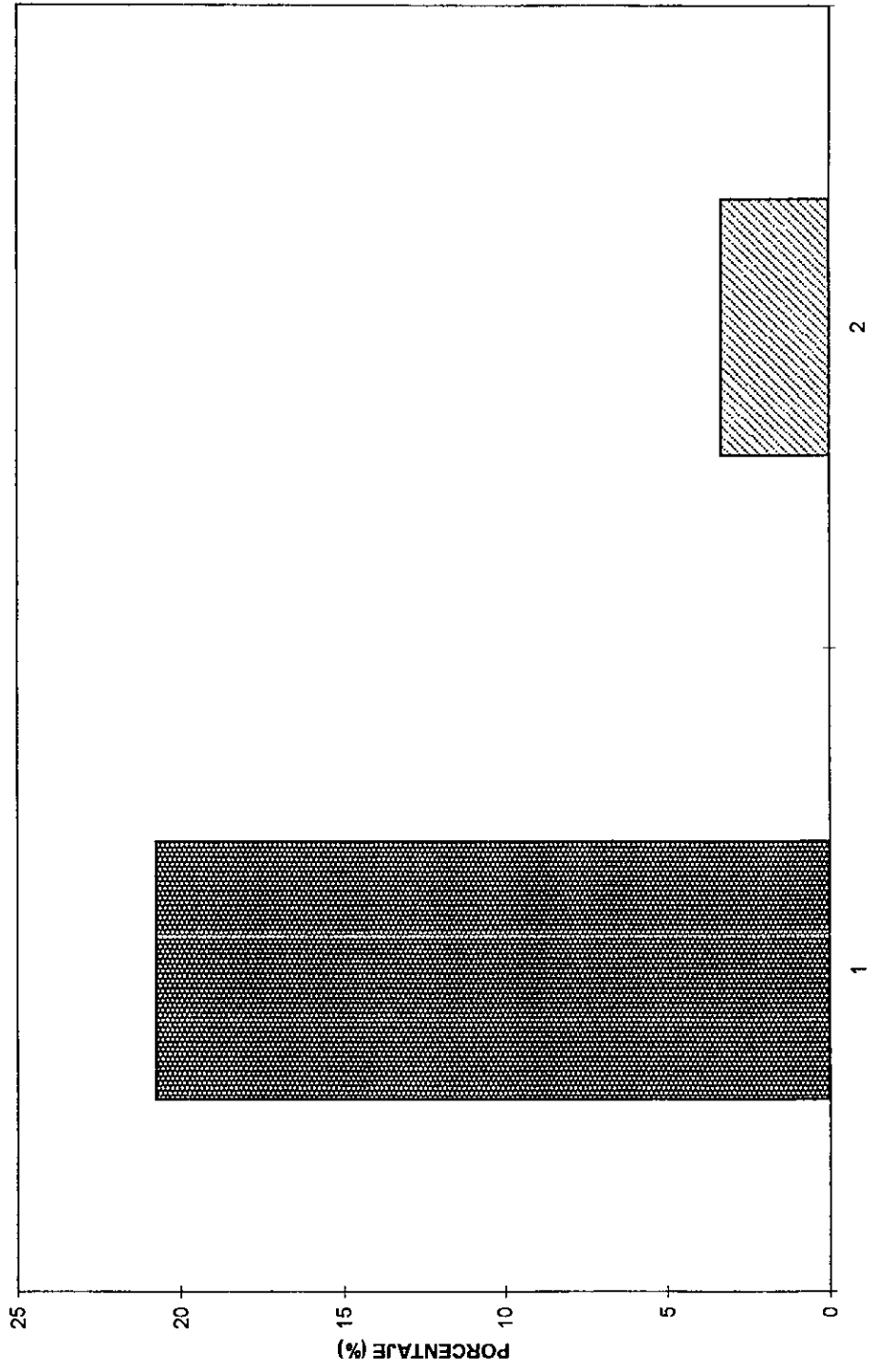
Con los resultados positivos de la proteína de la harina, se determinó el fraccionamiento de la proteína en diferentes soluciones. La solubilidad de la proteína en agua fue de 31.76%, lo que determina la presencia de albúminas en la proteína. La solubilidad con NaCl al 5% fue de 15.96%, lo cual da la presencia de globulinas. La solubilidad con el alcohol etílico al 70% fue de 2.17%, por lo tanto la ausencia de prolaminas. La solubilidad con hidróxido de sodio 0.2% fue el porcentaje más alto 41.56%, lo que demuestra un alto contenido de glutelinas. El contenido de proteína en el residuo es de 8.46%, lo que significa que un porcentaje bajo de la proteína no es soluble en ninguna solución (vid. Cuadro No.4 Anexo II o Gráfica No.4 Anexo III).

En el fraccionamiento de la proteína de la harina desgrasada de la semilla de hule, se determinó que la mayor solubilidad de la proteína y el nitrógeno fue con hidróxido de sodio. Por lo tanto, se hizo una sola extracción y los resultados demostraron que un 86.49% de la proteína es soluble en hidróxido de sodio (vid. Cuadro No.4 Anexo II o Gráfica No.4 Anexo III).

CUADRO No.3
CANTIDAD DE PROTEÍNA Y NITRÓGENO DE LA HARINA
DESGRASADA DE LA SEMILLA DE HULE
(hevea brasiliensis)

COMPUESTO	PORCENTAJE
PROTEÍNA (N x 6.25)	20.75% ±0.259
NITRÓGENO	3.32% ±0.042

**CANTIDAD DE PROTEÍNA Y NITRÓGENO DE LA HARINA
DESGRASADA DE LA SEMILLA DE HULE
GRÁFICA No.3**



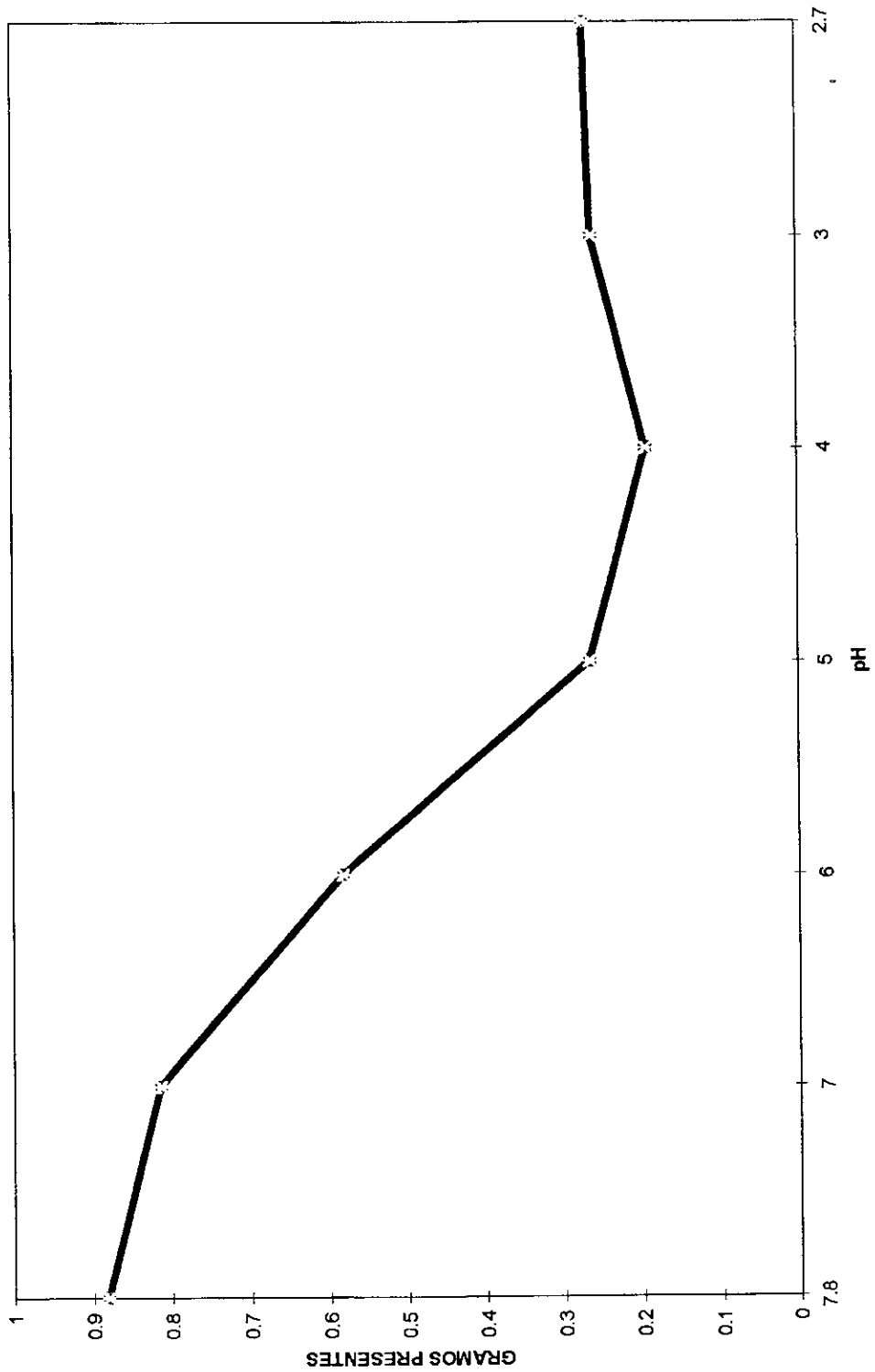
E. Punto isoeléctrico

Los factores que intervienen en la precipitación de las proteínas son el pH, la concentración de sal y la temperatura. Por ello se determinó la precipitación de la proteína a diferentes soluciones de pH y el punto isoeléctrico en donde no existe migración de cargas hacia ninguno de los extremos. Para la proteína de la harina desgrasada de la semilla de hule el punto isoelectrico fue a un $\text{pH} = 4$. En el $\text{pH} = 4$ se observa la mayor precipitación y la menor cantidad de proteína (0.194gr). Luego vuelve a mostrarse un aumento de proteína en los $\text{pH} = 3$ (0.262gr) y $\text{pH} = 2.7$ (0.271gr) por lo que se determina que es una proteína integral (vid. Cuadro No.5 o Gráfica No.5).

CUADRO No.5
DETERMINACIÓN DE LA CANTIDAD DE PROTEÍNA
DE LA HARINA DESGRASADA DE LA SEMILLA
DE HULE A DIFERENTES ESCALAS DE pH
(hevea brasiliensis)

pH DE LA SOLUCIÓN	PROTEÍNA EN LA MUESTRA (gr)	PORCENTAJE
7.8	0.882	84.81% ±3.041
7	0.815	78.14% ±1.966
6	0.583	56.16% ±3.246
5	0.266	25.63% ±0.487
4	0.194	18.72% ±0.989
3	0.262	25.23% ±0.771
2.7	0.271	26.14% ±0.898

**DETERMINACIÓN DE LA CANTIDAD DE PROTEÍNA DE LA HARINA DESGRASADA
DE LA SEMILLA DE HULE A DIFERENTES ESCALAS DE pH
GRÁFICA No.5**



E. Propiedades funcionales

Para la determinación de las propiedades funcionales de la proteína de la harina desgrasada de la semilla de hule, fue necesario hacer un aislado proteico. Para lograr este aislado se utilizó hidróxido de sodio. Luego de centrifugar por 15 minutos, se llevó la extracción a un pH= 4 (punto isoeléctrico), en donde se produce la mayor precipitación de proteína. Luego se lavó el aislado proteico con agua ácida y se sometió a un secado en el horno a 50°C por 24 horas. Como resultado se tuvo un aislado de color café oscuro, con olor agradable y textura aceitosa. Para quitar la textura aceitosa, se agregó éter dietílico, lo cual dio como resultado un aislado proteico seco y de color café claro.

El aislado proteico de la harina desgrasada de la semilla de hule no presentó ninguna actividad y estabilidad de emulsión, ya que las fases comienzan a separarse a los 30 minutos de agregar el aceite. Esto puede deberse a la baja solubilidad de la proteína, ya que según Pacheco (1984) existe una relación directamente proporcional entre la solubilidad y la habilidad de la proteína de formar una emulsión de tipo aceite y agua.

Según los resultados de la absorción de agua (2.21gr gel/gr muestra) y la absorción de aceite (1.45gr gel/gr muestra) muestran que el aislado proteico de la harina desgrasada tiene buena capacidad de absorber agua, debido a los enlaces de hidrógeno entre las moléculas de agua y los grupos polares de la proteína. Con respecto a la absorción de aceite, el aislado proteico presenta una buena capacidad de absorción debido a la presencia de grupos lipofílicos presentes en la proteína. La buena capacidad de absorber agua y aceite le imparte al aislado proteico un uso potencial en la mezcla de harinas comestibles. Los sólidos solubles en agua dan un resultado de 0.112 gr sólidos/gr muestra. La capacidad de espuma es de 10 ml de altura (vid. Cuadro No.6)

Para la determinación de la estabilidad de la espuma, se midió las alturas a tiempos de 5, 15, 30, 45, 60, 90 y 120 minutos. Se observa un decrecimiento lento de la espuma, lo cual indica una buena estabilidad (vid. Cuadro No.7 o Gráfica No.6).

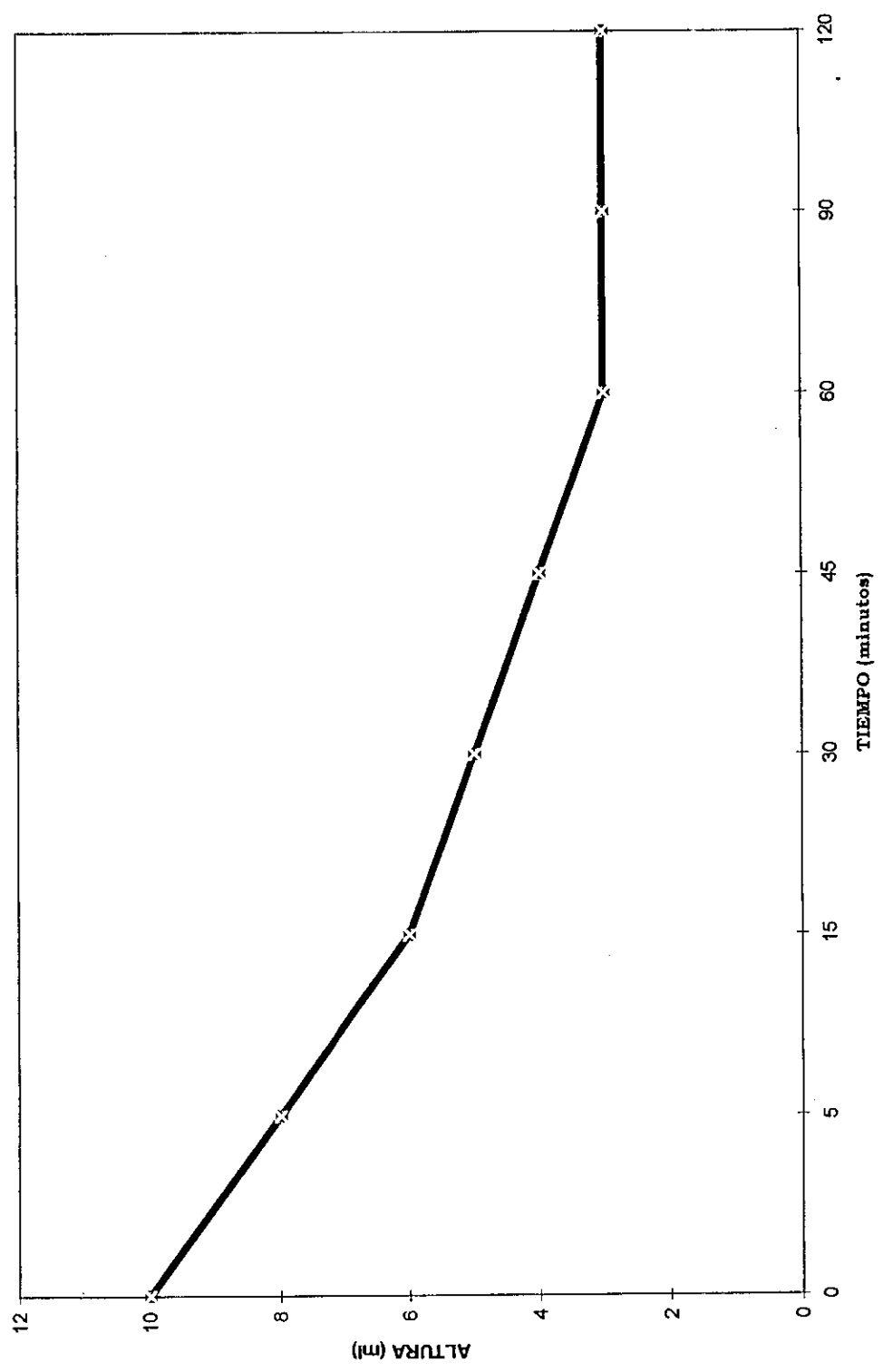
CUADRO No.6
PROPIEDADES FUNCIONALES DE LA PROTEÍNA
DE LA HARINA DESGRASADA DE LA SEMILLA DE HULE
(hevea brasiliensis)

PROPIEDAD FUNCIONAL	RESULTADO
ABSORCIÓN DE AGUA	2.21gr grl/gr muestra ±0.049
ABSORCIÓN DE ACEITE	1.45gr gel/gr muestra ±0.0434
SÓLIDOS SOLUBLES EN AGUA	0.112gr solidos/gr muestra ±0.098
CAPACIDAD DE ESPUMA	10 ml de altura ±0.707

CUADRO No.7
ESTABILIDAD DE ESPUMA DE LA HARINA
DESGRASADA DE LA SEMILA DE HULE

TIEMPO (minutos)	ALTURA (ml)
0	10 ±0.707
5	8 ±0.000
15	6 ±1.414
30	5 ±0.000
45	4 ±1.414
60	3 ±0.707
90	3 ±1.414
120	3 ±1.414

**ESTABILIDAD DE ESPUMA DE LA PROTEÍNA DE LA HARINA
DESGRASADA DE LA SEMILLA DE HULE
GRÁFICA No.6**



X. CONCLUSIONES

- A. La harina desgrasada de la semilla de hule (hevea brasiliensis) es una harina fina, de color café claro, con olor agradable y un contenido de 5.26% de humedad, 3.18% de cenizas, 10.01% de grasa residual, 20.75% de proteína y 3.32% de nitrógeno.
- B. Por medio del fraccionamiento de la proteína, la harina desgrasada tiene en su proteína la presencia de 41.56 % de glutelinas, 31.76% de albúminas y 15.96% de globulinas. Además la proteína presenta un 86.49% de solubilidad en hidróxido de sodio al 0.2%.
- C. El punto isoeléctrico es a un pH = 4, en donde ocurre la mayor precipitación de la proteína de la harina desgrasada de la semilla de hule (hevea brasiliensis).
- D. El tratamiento de remojo disminuye los niveles de glucósidos cianogénicos (linamarina) presentes en la harina desgrasada de la semilla de hule (hevea brasiliensis). La harina "no remojada" presenta 0.648mg HCN/gr muestra, y la harina "remojada" presenta 0.432 mg HCN/gr muestra.
- E. El aislado proteico presenta una buena absorción de agua 2.21gr gel/gr muestra, absorción de aceite 1.45gr gel/gr muestra, sólidos solubles 0.112 gr sólidos/gr muestra y una alta estabilidad de espuma. Por sus propiedades funcionales, el aislado proteico tiene un uso potencial en la mezcla de harinas comestibles.
- F. Debido a la gran disponibilidad de semilla de hule (hevea brasiliensis), la harina desgrasada y el aceite de la semilla, representan una buena fuente para el desarrollo de la agroindustria en Guatemala.

XI. RECOMENDACIONES

- A. Estudiar a fondo otros residuos tóxicos aún presentes en la harina, para garantizar su uso como alimento de animales o de humanos.
- B. Hacer pruebas de remojo y tratamiento térmico con el fin de obtener los niveles más bajos de glucósidos cianogenéticos (ideal llegar a 0 mg HCN/100gr muestra), presentes en la harina de la semilla de hule.
- C. Hacer prueba de evaluación biológica, en las cuales la proteína de la semilla de hule sea la fuente de las dietas y así determinar su valor alimenticio.
- D. De acuerdo con las propiedades funcionales y resultados de proteína y aceite, se recomienda un estudio detallado sobre el diseño e inversión de una planta piloto para la extracción de aceite y la preparación del aislado proteico de la semilla de hule (*hevea brasiliensis*) como nuevas fuentes para la agroindustria guatemalteca.
- E. Establecer la ausencia de glucósidos cianogenéticos en las fracciones de proteína de harinas tratadas y no tratadas para reducir los niveles de HCN iniciales

XII. BIBLIOGRAFIA

- Association of Official Analytical Chemists (AOAC) 1975. "OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS OF THE ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS". 12a. Edición, Washington, D.C. USA.
- Ayuso, T. 1974. "ESTUDIO SOBRE LA POSIBLE UTILIZACION DEL ACEITE EXTRAIDO DE LA SEMILLA DE HULE". Tesis de la Universidad San Carlos de Guatemala. 34pp.
- Badui, S. 1995. "QUIMICA DE LOS ALIMENTOS". Tercera edición. Editorial Alhambra Mexicana, México D.F. 125-203pp.
- Beuchat, L.R. Cherry J.P., y Michael R. 1975. "PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES OF PEANUT FLOUR AS AFFECTES BY PROTEOLYSIS". Journal Agriculture Food Chemistry 23, 616-620.
- Bourdoux, P., M. Mafuta, A. Hanson y A.M. Ermans. 1980. "CASSAVA TOXICITY: THE ROLE OF LINAMARIN". A.M. Ermans, N.M. Mbulamoko, F. Delange y R. Ahluwalia. International Development Research Center, Canada. 15-27pp.
- Bressani R., L. Elías. 1981. "EVALUACION NUTRICIONAL DE LA ALMENDRA DE LA SEMILLA DE HULE (hevea brasiliensis) EN POLLOS DE ENGORDE". Memorial del Congreso Nacional de Avicultura. 146pp.

- Butler, G. W. 1965. "THE DISTRIBUTION OF THE CYANOGLUCOSIDES LINAMARIN AND LOTAUSTRALIN IN HIGHER PLANTS". *Phytochem.* 90-100pp.
- Butler, P.F. 1973. "PHYSIOLOGICAL AND GENETIC ASPECTS OF CYANOGENESIS IN CASSAVA AND OTHER PLANTS". International Development Research Center Monography, London, England. 65-71pp.
- Cooke, R.D. 1978. "AN ENZYMATIC ASSAY FOR THE TOTAL CYANIDE CONTENT OF CASSAVA". *J. Sci. Fd. Agric.* 345-352pp.
- Conn, E.E. 1969. "CYANOGENETIC GLYCOSIDES". *J. Agric. Food Chem.* 520pp.
- Conn, E.E. 1973. "CYANOGENETIC GLYCOSIDES IN TOXICANTS OCCURRING NATURALLY IN FOOD". National Academy of Sciences. 2nd Edition. Washington, D.C., USA. 300-305pp.
- Downie, N.M., R.W. Heath. 1973. "MÉTODOS ESTADÍSTICOS APLICADOS". 3a. edición. Editorial HARLA, México D.F. 18pp.
- Duke, J. A. 1983. "HANDBOOK OF ENERGY CROPS". *Am. Soc. Agron*, Madison, WI. Internet. 1-5pp.

- Fetuga, B.L., T.O. Ayeni, A. Olaniyan, M.A. Balogun, G.M. Babatunde y V.A. Oyenuga. 1977. "BIOLOGICAL EVALUATION OF PARA RUBBER SEEDS (*Hevea brasiliensis*)". Nutrition Report International. 496-510pp.
- González, H. Eduardo. 1982. "SUBSTITUCIÓN PARCIAL DE LA PROTEÍNA DE HARINA DE ALGODON POR PROTEÍNA DE SEMILLA DE HULE (*hevea brasiliensis*) EN DIETAS PARA BOVINOS DE CARNE". Tesis de la Universidad San Carlos de Guatemala. 3-7pp.
- Hill, A.F. 1937. "ECONOMIC BOTANY". 1a Edition. McGraw-Hill Book Co Inc. USA. 143-157pp.
- Hoffman, V.L., Lee C.K., y Burns E.F. 1975. "SELECTED FUNCTIONAL PROPERTIES OF SUNFLOWER MEALS". Food Science. 40, 70-74.
- Horhammer, L., List, P.H. 1983. "HAGER'S HANDBUCH DER PHARMAZEUTISCHEN PRAXIS". Vol. 2-6. Internet. Springer-Verlag, Berlin.
- Lauw T. G., Husaini, Samsudin e I. Tarworjo. 1967. "NUTRITIONAL VALUE OF RUBBER SEED PROTEINS". Am. J. Clin. Nutr. 1300-1303pp.
- López, Mayra. 1984. "DETERMINACIÓN DE ENERGÍA METABOLIZABLE VERDADERA Y VALOR NUTRITIVO DE LA ALMENDRA DE SEMILLA DE HULE (*hevea brasiliensis*) EN POLLOS DE ENGORDE". Tesis de la Universidad San Carlos de Guatemala. 4-8pp.

- Lottman, J.G. 1981. "EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DEL ACEITE DE LA SEMILLA DE HULE". Tesis de la Universidad Del Valle de Guatemala. 123pp.
- Montgomery, R. D. 1980. "CYANOGENS IN TOXIC CONSTITUENTS OF PLANT FOODSTUFFS. 2nd Edition. Academic Press, Inc. USA. 144pp.
- Ong, H.K., S.W. Yeong. 1977. "PROSPECTS FOR THE USE OF RUBBER SEED MEAL FOR FEEDING PIGS AND POULTRY". Malaysian Agricultural Research and Development Institute. Serdang, Selangor, Malaysia. 12pp.
- Orok, E. J., P. Bowland. 1974. "NIGERIAN PARA RUBBER SEED MEAL AS AN ENERGY AND PROTEIN SOURCE FOR RATS FED SOYBEAN MEAL OR PEANUT MEAL SUPPLEMENTES DIETS". Can. J. Anim. Sci. 54pp.
- Orr, M.L., B. K. Watt. 1957. "AMINO ACID CONTENT OF FOOD". Home Economic Research, Report No.4, USDA. Washington, D.C. 58pp.
- Ovalle, C. Alfredo. 1983. "MANUAL DE CULTIVO DE HULE HEVEA DE GUATEMALA". DIGESA., Guatemala. 3-18pp.
- Pacheco, E. 1984. "CONCENTRADOS PROTEICOS DE PALMA AFRICANA (*Elaeis guineensis* jaquin). PROCESO DE EXTRACCIÓN Y PROPIEDADES FUNCIONALES" Tesis del Instituto de Química y Tecnología de la Universidad Central de Venezuela. 2pp.

- Polhamus. 1962. "RUBBER: BOTANY, PRODUCTION, UTILIZATION". World Crop Series. N. Polunin, U.S.D.A. Leonard Hill-Interscience. Great Britian. 449pp.
- Rosal, O. R. 1970. " DETERMINACIÓN DEL VALOR NUTRITIVO DE LA TORTA DE LA SEMILLA DE HULE". Tesis de la Universidad Del Valle de Guatemala. 31pp.
- Selle, C. Margarita. 1982. "EVALUACIÓN QUÍMICA Y NUTRICIONAL DE LA ALMENDRA DE SEMILLA DE HULE". Tesis de la Universidad Del Valle de Guatemala. 155pp.
- Sosulski, F.W. 1962. "THE CENTRIFUGE METHOD FOR DETERMINING FLOUR ABSORPTION IN HARD RED SPRING WHEAT". Cereal Chemistry 39, 344-350.
- Stosic, D.D., J.M. Kay. 1981."RUBBER SEEDS AS ANIMAL FEED IN LIBERIA". World animal Review FAO No. 39. 29pp.
- Valenzuela, R. 1995. "ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA". 1a. Edición. Universidad Rafael Landivar de Guatemala. 70-83pp.
1997. "RESUMEN DE LA SITUACIÓN ACTUAL DEL SECTOR CAUCHO NATURAL DE GUATEMALA". Gremial de Huleros de Guatemala.

XIII. ANEXO I

METODOLOGÍA

Para la determinación de masa y cáscara de la semilla, se clasifican 250 semillas de tamaño y forma homogénea. Se determina humedad por diferencia de peso. Luego se descascaran el resto de semillas y una parte se somete a un tratamiento de remojo con agua durante 24 horas.

Luego de la extracción del aceite, el residuo recibe aireación con agitación para extraer todo residuo de hexano. Al tener de nuevo la almendra seca, se somete a la molienda y tamizado, con lo que se obtiene una harina fina con color café claro y olor agradable.

Ya teniendo la harina, se determina la humedad para conocer la cantidad de agua residual presente; la ceniza se determina con una mufla y diferencia de peso; la grasa residual con Soxhlet y diferencia de peso también. La determinación de la proteína y nitrógeno se hace con el método Kjeldahl utilizando el macro Kjeldahl.

Para conocer el fraccionamiento de la proteína se determina la solubilidad haciendo extracciones con diferentes soluciones: agua, NaCl 5%, alcohol etílico 70% y NaOH 0.2%. Se utiliza una centrifuga para separar el sobrenadante, el cual se le determina la proteína por medio del método de Kjeldahl. Se cuantifican los resultados de nitrógeno y proteína para conocer la solubilidad de la proteína en cada extracción.

Se hacen extracciones con NaOH para obtener la mayor solubilidad de la proteína. Luego se determina el punto isoeléctrico cambiando los pH de las extracciones desde pH 7.8 hasta pH 2.7. Se determina a cada solución de pH

diferente la cantidad de nitrógeno y proteína por el método Kjeldahl. Los resultados obtenidos se grafican y se determina el punto isoeléctrico de la proteína.

Para la determinación de los glucósidos cianogénicos, se hace por separado para la harina "remojada" y la harina "no remojada". Las muestras se destilan con una solución de NaOH y al destilado se le agrega hidróxido de amonio y se titula con nitrato de plata. Para obtener los resultados se hace la conversión de que 1ml de nitrato de plata es a 1.08mg de HCN y se cuantifican los resultados.

Finalmente se hace un aislado proteico con el fin de determinar las propiedades funcionales. Al hacer la extracción con NaOH a un pH= 4, se precipita la proteína la cual es separada y lavada con agua ácida. Luego se somete a secado y molienda para así obtener un aislado proteico de color café claro y en forma de harina fina. Las propiedades funcionales a determinar son la absorción del agua, absorción de aceite, sólidos solubles en agua, emulsificación y capacidad y estabilidad de espuma.

XIV. ANEXO II

CUADROS

CUADRO No.1
CARACTERÍSTICAS DE LA HARINA
DESGRASADA Y DE LA SEMILLA DE HULE

PORCENTAJE

Humedad de la semilla en 100 gr	31.5	31.5%
Peso de la semilla (gr)	2.06	100%
Cáscara de la semilla (gr)	1.16	56%
Almendra(gr)	0.90	44%
Harina no remojada	0 hrs.	0.648**
Harina remojada	24 hrs.*	0.432**
Humedad de la harina		5.26% ±0.075
Cenizas de la harina		3.18% ±0.098
Grasa residual de la harina		9.91% ±0.41
Carbohidratos de la harina***		60.9%

* La semilla fue remojada en agua por 24 horas

**mg/ 100gr de muestra

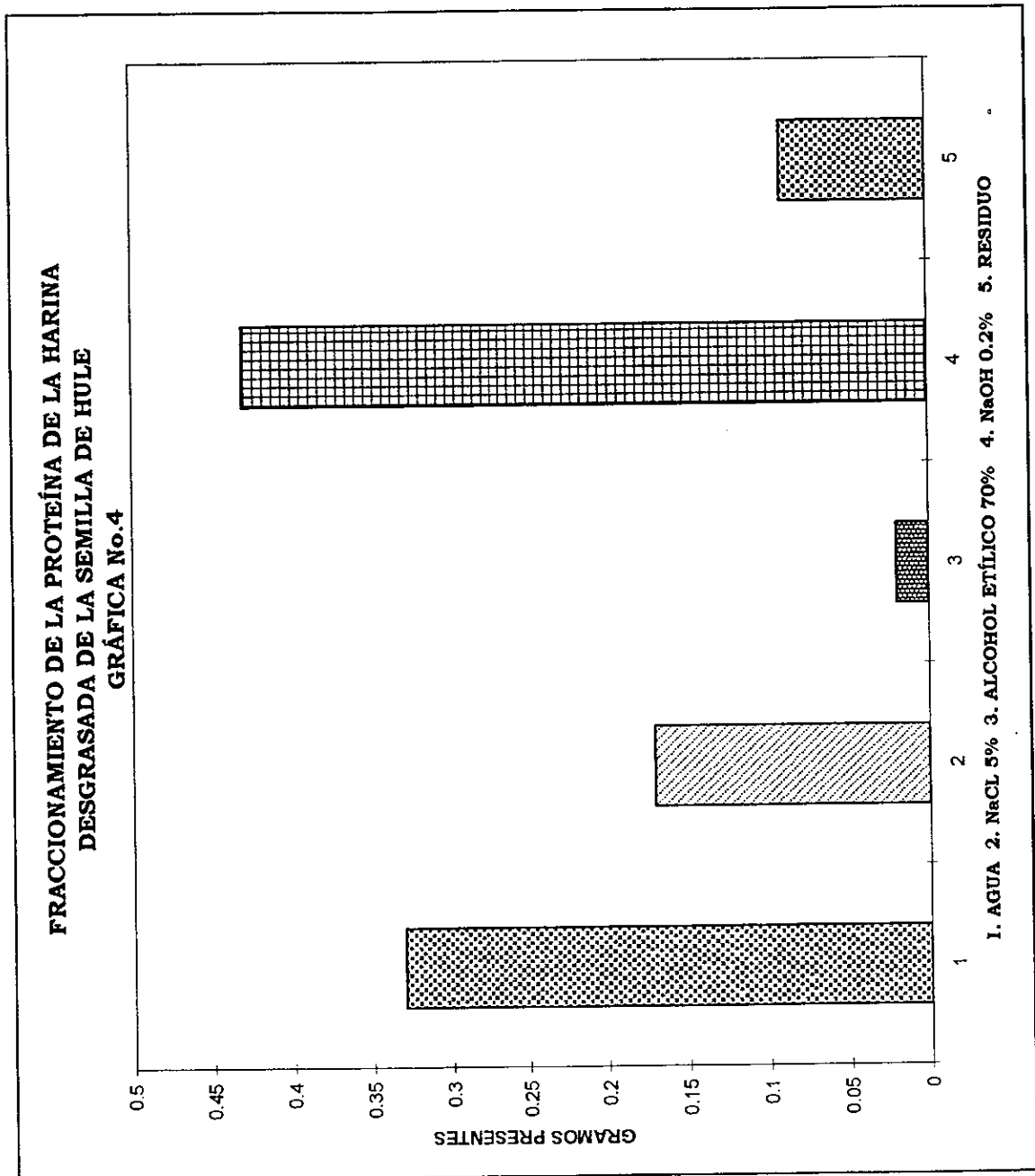
*** por diferencia

CUADRO No.4
FRACCIONAMIENTO DE LA PROTEÍNA DE LA
HARINA DESGRASADA DE LA SEMILLA DE HULE
(hevea brasiliensis)

Proteína inicial en 5 gr de harina 1.038gr	PROTEÍNA PRESENTE (gr)	PORCENTAJE
PROTEÍNA SOLUBLE EN AGUA	0.33	31.76% ±2.121
PROTEÍNA SOLUBLE EN NaCL 5%	0.17	15.96% ±0.757
PROTEÍNA SOLUBLE EN ALCOHOL ETÍLICO 70%	0.02	2.17% ±0.099
PROTEÍNA SOLUBLE EN NaOH 0.2%	0.43	41.56% ±1.365
PROTEÍNA EN EL RESIDUO	0.09	8.46% ±1.414
	TOTAL	99.91%
PROTEÍNA TOTAL SOLUBLE EN NaOH	0.9023	86.49 ±0.481

XV. ANEXO III

GRÁFICAS



XVI. PROGRAMACIÓN

- A. RECEPCIÓN, CLASIFICACIÓN Y LIMPIEZA DE LAS SEMILLAS *1 semana*
- B. DETERMINACIÓN DE LA MASA DEL FRUTO Y CASCARA, LA HUMEDAD, REMOJO Y COCCIÓN DE LA SEMILLA
1 semana
- C. EXTRACCIÓN DEL ACEITE *2 semana*
- D. MOLIENDA Y TAMIZ DE LA HARINA *2 semana*
- E. DETERMINACIÓN DE HUMEDAD, CENIZAS, ACEITE Y PROTEÍNA DE LA HARINA *5 semanas*
- F. FRACCIONAMIENTO DE LA PROTEÍNA *3 semana*
- G. DETERMINACIÓN DE LA PROTEÍNA EN EL RESIDUO Y SOLUBILIDAD EN HIDRÓXIDO DE SODIO *2 semana*
- H. DETERMINACIÓN DEL pH Y PUNTO ISOELÉCTRICO
1 semana
- I. DETERMINACIÓN DE GLUCÓSIDOS CIANOGENÉTICOS
3 semanas
- J. DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES FUNCIONALES
1 semana

