

2ej
109



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

OBTENCION DE GLOBINA DE BOVINO; POSIBLES
ALTERNATIVAS DE USO COMO ADITIVO ALIMENTARIO

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A
FELIPE RODRIGUEZ PALACIOS



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

OBTENCION DE GLOBINA DE BOVINO; POSIBLES ALTERNATIVAS DE USO COMO ADITIVO ALIMENTARIO.

Introducción	3
Objetivo	4
1. Sangre	5
1.1 Composición	5
1.2 Funciones	5
1.3 Métodos de Conservación	7
1.3.1 Métodos Químicos para conservar la sangre	7
1.3.2 Métodos Físicos para conservar la sangre	7
1.3.3 Anticoagulantes	7
1.4 Manejo y Recolección Higiénica	8
2. Fracciones	12
2.1 Generalidades	12
2.2 Plasma	12
2.3 Paquete Globular	13
2.4 Métodos de Obtención, Purificación y Eliminación del Color	14
2.4.1 Extracción con Solventes	14
2.4.2 Obtención de Globina per Acción Enzimática	16
2.4.3 Precipitación con Carboximetilcelulosa	18
2.4.4 Deceleración Mediante el Empleo de Peróxido de Hidrógeno	20
3. Propiedades de las Proteínas del Plasma	21
3.1 Solubilidad	21
3.2 Propiedades Antioxidantes	23
3.3 Propiedades Emulsificantes	25
3.4 Propiedades de Formación de Geles	27
3.5 Propiedades Espumantes	31
3.6 Propiedades como Amortiguador	34
3.7 Propiedades como Saborizante de Reacción	36
4. Propiedades de la Globina	38
4.1 Solubilidad	38

4.2	Propiedades Ligantes de Agua	38
4.3	Propiedades Emulsificantes	43
4.3.1	Em Globina Nativa	43
4.3.2	Mejoramiento de las Propiedades Emulsificantes de la Globina	46
4.4	Propiedades Espumantes	47
4.5	Propiedades de Formación de Geles	48
5.	Aplicaciones en Alimentos	50
5.1	Historia	50
5.2	Ferulación de Pastas	51
5.3	Productos de Panadería	52
5.3.1	Emplee de Aislados Proteínicos de Plasma	52
5.3.2	Simergismo entre Sangre y Suero de Queso en Ferulaciones de Harinas para Panificación	52
5.4	Productos Cárnicos	54
5.4.1	Embutidos	54
5.4.2	Ferulaciones con Carne Molida o Picada	56
5.5	Productos Diversos	56
5.6	Aspectes Nutricionales	56
6.	Emulsiones	59
6.1	Generalidades	59
6.2	Las Proteínas como Emulsificantes	59
6.3	Mecanismo de Acción de Polímeros Proteínicos	60
6.4	Mayonesas y Aderezos	61
Parte Experimental		
	Secuencia de trabajo	64
	Materiales y Métodos	65
	Resultados	75
	Discusión de Resultados	91
	Conclusiones	94
	Bibliografía	95

INTRODUCCION

En los últimos años debido a la búsqueda de fuentes no convencionales de proteínas como: las semillas²¹, las hojas², el suero de queso²⁷; se ha estudiado la posible recuperación de las proteínas presentes en la sangre del ganado bovino y porcino⁴⁹.

El uso de aislados proteínicos sanguíneos, en alimentos no es nuevo, ya que en algunos países europeos encuentran aplicación en productos cárnicos⁴¹. Gran parte de las investigaciones realizadas versan sobre la utilización de aislados proteínicos de sangre como fuentes de proteína de buena calidad, suplementando con cereales y de éste modo se ha pretendido ampliar el campo de aplicación de tales aislados⁵² a productos de panadería²⁰, embutidos, mayonesas e incluso tortillas.¹⁰

De las fracciones de la sangre; plasma y paquete globular que se obtienen fácilmente por centrifugación, éste último ha sido desechado por el intenso color oscuro que imparte a los productos en los cuales se ha usado, de modo que ha recibido poca atención.

Existen diversas alternativas de uso para las proteínas obtenidas de la sangre del ganado bovino; gracias a nuevos métodos de separación, es posible obtener aislados proteínicos del paquete globular al eliminar el grupo hemo, responsable de su intenso color oscuro.

Alejándonos un poco del punto de vista nutricional, existen algunas alternativas en cuanto al empleo de proteínas tanto del plasma como del paquete globular, en virtud de presentar una serie de propiedades funcionales muy útiles como son: antioxidantes, espumantes, emulsificantes, ligantes de agua etc., mismas que no han sido ampliamente estudiadas. Las perspectivas de empleo no terminan aquí pues a partir de los aislados pueden obtenerse hidrolizados proteínicos de gran importancia desde el punto de vista del desarrollo de nuevos vehículos de sabores artificiales e incluso como potenciadores de sabor.

OBJETIVO

Los objetivos del presente estudio son: la optimización de un método a base de solventes para eliminar el color del paquete globular y obtener un aislado de globina, encontrando los puntos críticos del proceso; la caracterización funcional del aislado, lo cual ha de permitir la evaluación de sus propiedades como aditivo y, finalmente la aplicación de la globina en la formulación de un producto alimenticio, sustituyendo algún aditivo o ingrediente convencional.

1. Sangre

1.1 Composición

La sangre está formada por dos elementos primarios que son: el plasma y el paquete globular, éste último a su vez constituido por los glóbulos rojos, blancos y plaquetas.

En el ganado bovino el plasma se encuentra en una proporción del 60 al 65.0 %, en tanto que el paquete globular en una relación del 35.0 al 40.0 %; con la salvedad de que éstos porcentajes pueden variar ligeramente de acuerdo a diversos factores tales como la raza, la alimentación la actividad corporal, la altitud etc.¹⁷

El plasma presenta un porcentaje de aproximadamente 8.0 % de proteína; mientras que el paquete globular contiene alrededor de un 35.0 %, es decir, la mayor parte de las proteínas de la sangre se encuentran contenidas en ésta segunda fracción, de aquí la gran importancia en cuanto a la posible utilización de las proteínas del paquete globular, ya que de 100 kg de sangre se pueden obtener unos 18 kg de proteína, pero de ellos 14.6 se recuperaría de la fracción celular.⁵⁴

Al contener la sangre entera de bovino un 18.0 % de proteínas, éstos es, tanto como le que se encuentra en la carne magra, en algunos estudios nutricionales ha sido llamada " carne líquida ". De una res adulta se pueden colectar de 10 a 12 litros de sangre; así de cada cabeza de ganado de un promedio de peso de 500 kilogramos y con un contenido de carne magra de 170 kilogramos, la utilización de su sangre representaría un incremento del 6.0 al 7.0 % en términos de proteína.²⁴

1.2 Funciones

Desde el punto de vista fisiológico, la sangre es el fluido más importante en los organismos, debido a sus múltiples funciones, mismas que se extienden a mecanismos de regulación, respiratorios, excreción etc.

a) Función Respiratoria

El transporte de oxígeno a todas las células del organismo lo realiza la sangre gracias al pigmento conocido como hemoglobina, contenido en los glóbulos rojos, el cual literalmente " atrapa " al oxígeno y bióxido de carbono; mediante éste pigmento la sangre puede transportar de 30 a 100 veces más oxígeno que el que pudiera ser transportado por simple disolución en agua.

b) Función Nutricional

Gracias al fluido sanguíneo se lleva a efecto el transporte de sustancias nutritivas a cada célula del organismo, desde el intestino con lo cual todos los tejidos reciben un aporte de sustancias de importancia vital como energéticos o bien como materia prima para la elaboración de proteínas. A través del torrente sanguíneo sólo circulan compuestos de bajo peso molecular, como aminoácidos, glucosa o ácidos grasos.

c) Función Excretora

Los productos finales del metabolismo celular como el CO_2 y el ácido láctico entre otros, son transportados por el torrente sanguíneo hasta los órganos encargados de la excreción.

d) Función Defensiva

En la sangre circulan los anticuerpos, las enzimas y los leucocitos que están encargados de participar eficazmente en los procesos defensivos del organismo y protegerlo contra bacterias, cuerpos extraños o toxinas que pudiesen acarrear un peligro.

e) Función Reguladora del Equilibrio Acuoso

El agua que pudiera encontrarse en exceso, es retenida inmediatamente en los espacios intersticiales, para ser llevada a través de la sangre a los centros para su excreción o eliminación.

f) Función Reguladora del pH

La hemoglobina posee un alto poder amortiguador, lo mismo las proteínas séricas y además el sistema bicarbonato-ácido carbónico, gracias a ello la sangre es capaz de mantener el valor de su pH dentro de límites muy estrechos, valor que en los animales domésticos como el ganado bovino se encuentra entre 7.35 y 7.45.

g) Función Reguladora de la Presión Osmótica

Debido al contenido de sales y proteínas en la sangre, la presión osmótica es mantenida dentro de ciertos límites, lo cual resulta de una gran importancia para los fenómenos de intercambio que se llevan a cabo a nivel capilar y para el equilibrio acuoso en todos los tejidos.

b) Función Transportadora de Hormonas

La sangre es el medio a través del cual son transportadas las hormonas desde sus lugares de síntesis hasta aquellos en los que ejercen su acción, éste es a los órganos efectores.

i) Función de Transmisión de Calor

El calor producido en todas las células del organismo como resulta de los procesos metabólicos, es distribuido eficaz y homogéneamente por la sangre a todo el organismo.

1.3 Métodos de Conservación

La conservación de la sangre se logra mediante la aplicación de factores que prevengan el ataque bacteriano o bien que retarden o eviten el proceso de coagulación. La prevención del ataque microbiano a la sangre se logra mediante métodos químicos y físicos.

1.3.1 Métodos Químicos para Conservar la Sangre

Estos métodos no retardan o evitan la coagulación, sólo previenen el ataque microbiano.

- a) Bióxido de carbono (CO_2) en forma gaseosa.
- b) Cloruro de Sodio (NaCl) en solución y a diferentes concentraciones.
- c) Nitrito de Sodio (NaNO_2) mezclado en distintas proporciones con ácido benzoico y en solución.
- d) Isetiocianatos orgánicos, derivados de hidrocarburos alifáticos o alifáticos.
- e) Ácido Láctico en solución.
- f) Pirofosfato de Sodio en solución.

1.3.2 Métodos Físicos para Conservar la Sangre

- a) Refrigeración a temperaturas no mayores de 5°C , con lo que se retardan tanto la acción microbiana como la coagulación, si bien no se evitan.
- b) Preeenfriamiento a temperaturas de alrededor de 2°C y congelado posterior a menos de -5°C con lo que se evita la formación de fibrina.

1.3.3 Anticoagulantes

- a) Citrato de sodio
- b) Ácido Oxálico
- c) Ácido Etilendiaminotetracético (EDTA)
- d) Heparina.

Desde el punto de vista alimenticio³ los anticoagulantes más importantes son el citrato de sodio y el EDTA siendo normalmente utilizados cuando la sangre se destina a estos fines. El mecanismo de acción de éstos dos anticoagulantes consiste en " atrapar " o quelar al catión calcio (Ca^{2+}), factor esencial en el mecanismo de coagulación con lo que el proceso queda bloqueado.

1.4 Manejo y Recolección Higiénica

Un prerrequisito necesario para la utilización de sangre en alimentos es efectuar una recolección higiénica que no sólo asegura una protección contra contaminación bacteriana en el lugar de sacrificio, sino que además garantiza que sólo sea empleada sangre de animales que hayan sido sometidos a una debida inspección sanitaria.

En algunos países europeos existen equipos sanitarios para la recolección higiénica de la sangre; los cuales presentan bajos costes de operación. A continuación se describirá un equipo manufacturado en Dinamarca por la Nutridan Engineering Co., que es de gran versatilidad pues puede ser empleado indistintamente para la recuperación de sangre de ganado bovino, porcino u ovino.⁵⁴

Una vez sacrificado el animal, la sangre fluye por gravedad desde el cuerpo que cuelga de una banda transportadora, gracias a un cuchillo previamente esterilizado que se inserta en las arterias del cuello. La sangre recolectada va llenando los tanques de recolección y al mismo tiempo una porción de anticoagulante (generalmente citrato de sodio) se libera de otro tanque para mezclarse con la sangre recién obtenida. La velocidad del flujo permite recolectar el líquido en unos treinta segundos en el caso de los cerdos y en un minuto cuando se trata de ganado bovino. Una vez terminada la recolección se retira el cuchillo para esterilizarlo nuevamente.

Para mantener un control sobre la sangre que se encuentra en los tanques, se marca cada animal con el número del tanque en el cual se recogió su sangre, así cuando un tanque haya sido llenado con determinado número de animales, se cierra automáticamente para comenzar el llenado del siguiente, lo cual se puede registrar en una pantalla digital. La aprobación de cada tanque debe ser dada por un veterinario que está a cargo de la línea de sacrificio, quien señalará su aprobación o rechazo presionando un botón colocado en un panel eléctrico; en caso de que la

sangre sea rechazada, se desecha automáticamente del tanque de recolección y llevada a otro tanque en donde se la empleará para fines no alimenticios.

En la figura 1, puede observarse el sistema completo incluso con el equipo para proceso; la sangre recolectada en los tanques es hecha circular entonces, a través de un sistema de refrigeración, de donde pasa luego a otros tanques de almacenamiento debidamente refrigerados de donde se procesa inmediatamente o bien se mantiene por cortos lapsos hasta su proceso. En este punto es importante señalar que el almacenamiento debe llevarse con cuidado pues la temperatura no debe exceder los $3 - 5^{\circ}\text{C}$; por otro lado el tiempo transcurrido entre la recolección de la sangre y su procesamiento debe efectuarse antes de 48 horas, esto debido a una serie de cambios degradativos que se pueden presentar en la sangre, como es el caso de una contaminación bacteriana, ya que los equipos no garantizan ser un 100.0 % estériles.

El proceso de la sangre puede ser, bien sea como sangre entera o puede pasar a la centrifuga, de donde se obtendrán plasma y paquete globular. Estas fracciones pueden mantenerse por congelación y ser distribuidas o bien se llevan a un secado por aspersión.

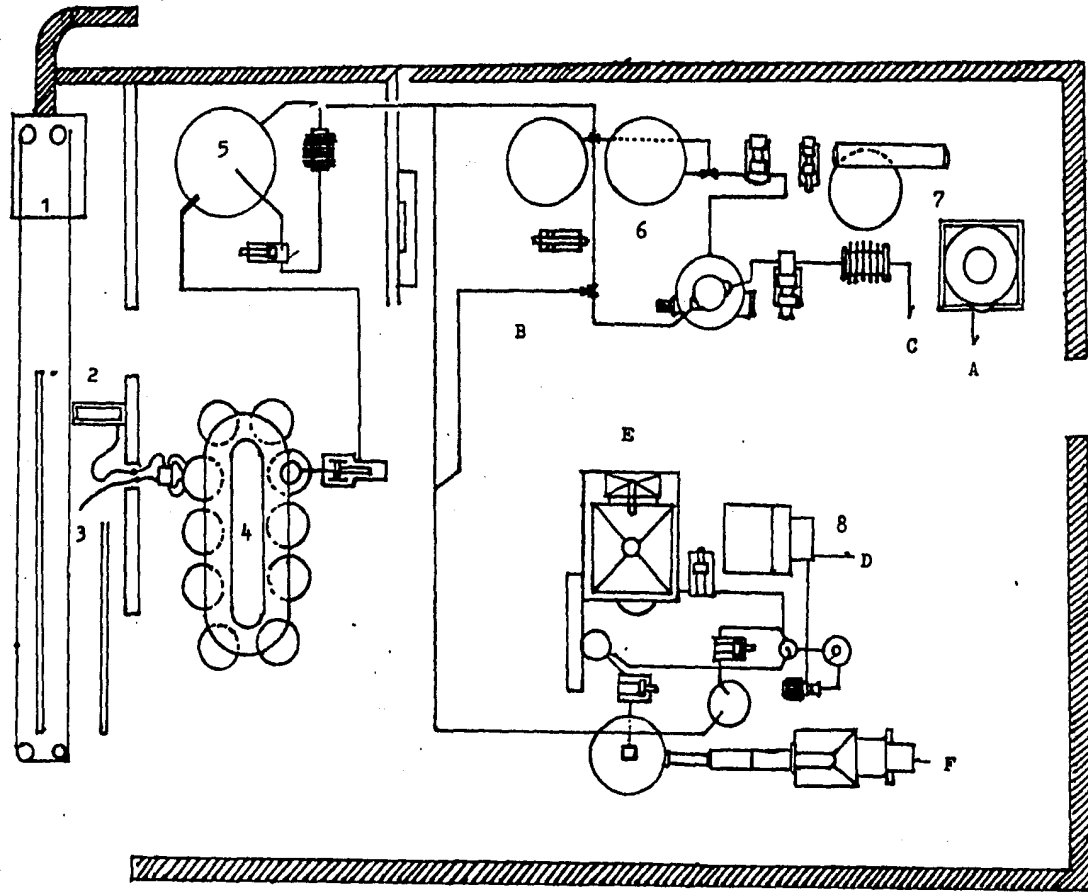


Fig 1 Diagrama de un Sistema para la Recolección y Proceso de Sangre. (Nutridan Engineering Co 1978)

- 1 Area de Aturdimiento
- 2 Equipo de Control Digital
- 3 Area de Sangrado
- 4 Tanques de Almacenamiento de la Sangre antes de su Aprobación Sanitaria.
- 5 Tanque de Almacenamiento de la Sangre Refrigerado
- 6 Centrifuga para la Separación de Plasma y Paquete Globular
- 7 Equipo para el Congelado de Plasma
- 8 Equipo para la Preparación de Emulsiones Sangre-Grasa

- A Plasma Congelado
- B Paquete Globular para la Obtención de Globina.
- C Plasma Líquido
- D Emulsiones Sangre-Grasa
- E Caseinato u otra Proteína para Estabilizar las emulsiones formadas
- F Grasa para su Empleo en la Elaboración de Emulsiones

2. Fracciones

2.1 Generalidades

De la sangre pueden obtenerse por centrifugación, dos fracciones: el plasma y el paquete globular; de cuyas características y composición se hablará en el presente capítulo, así como en lo que se refiere a la fracción del paquete globular se discutirán los métodos existentes para la eliminación del color y la purificación de la proteína obtenida.

2.2 Plasma

El plasma es líquido pálido de color ámbar y pesa entre 7.0 y 7.5 gramos de proteína por cada 100 ml, constituyendo éstas, la mayor parte de los sólidos de que está constituido. En realidad las proteínas plasmáticas son una mezcla muy compleja de proteínas simples y conjugadas. Mediante una separación con la ayuda de solventes y diversas sales, pueden obtenerse las proteínas del plasma, basadas en sus características de solubilidad.¹⁴ De este modo las proteínas del plasma suelen separarse en dos grupos principales que son: las albúminas y las globulinas.

El fibrinógeno, incluido dentro de las globulinas, es el precursor de la fibrina que a su vez es responsable de la formación del coágulo sanguíneo. Las globulinas son precipitadas por el sulfato de sodio a media saturación o bien por una solución 0.75 molar de la misma sal. El fibrinógeno es una molécula asimétrica, alargada con un peso molecular que oscila entre 350,000 y 450,000. Por otro lado ésta proteína constituye entre el 4.0 y el 6.0 % de las proteínas totales del plasma.

Las albúminas y las globulinas pueden ser separadas entre sí mediante el uso de una solución de sulfato de sodio al 27.0 %, con la que precipitan las globulinas quedando las albúminas en solución o bien por técnicas más complejas como la electroforesis.

De las albúminas la más importante es la seroalbúmina, que es la más abundante, su peso molecular aproximado es de 69,000 y su estructura primaria consiste en una sola cadena de 610 aminoácidos.

Las globulinas son en sí una mezcla muy complicada, cuyos principales componentes son:

-Las mucoproteínas y glucoproteínas, las cuales resultan de la combinación de carbohidratos con globulinas; aunque ciertos autores¹⁴ definen

a las mucoproteínas como aquellas proteínas que tienen más del 4.0% de hexosamina y como glicoproteínas a las que contienen menos del 4.0% de tal carbohidrato.

-Las lipoproteínas, que constituyen aproximadamente el 3.0 % de las proteínas plasmáticas y que resultan de la combinación de globulinas con lípidos.

-Proteínas fijadoras de metales, que son globulinas que se combinan estequiométricamente con metales como el hierro y el cobre; entre ellas se encuentra la transferrina, cuya función es el transporte de hierro en la sangre y la ceruloplasmina que contiene un 0.34 % de cobre.

-Las inmunoglobulinas, proteínas encargadas de todos los procesos inmunológicos de los cuales es responsable la sangre.

2.3 Paquete Globular

Dentro de los glóbulos rojos, se encuentra la proteína conocida como hemoglobina y a la cual se debe su intenso color rojo. La concentración normal de ésta proteína es de 14 a 16 gramos por cada 100 ml de sangre. La hemoglobina es una proteína conjugada cuyo grupo prostético se conoce con el nombre de hemo, y el cual es separado con cierta facilidad por ácidos diluidos, dejando libre la proteína, denominada globina. Por su estructura, la globina pertenece al grupo de proteínas conocidas como histonas. El grupo hemo al que nos hemos referido es una ferroporfirina y cuando se obtiene en forma de cristales como clorhidrate se conoce como hemina.

La globina está formada por cuatro cadenas polipeptídicas, dispuestas en forma de tetraedro; de ellas dos poseen en el nitrógeno terminal los aminoácidos valina-leucina y son llamadas cadenas alfa; mientras que las otras dos cadenas presentan también en el nitrógeno terminal, la sucesión de aminoácidos valina-histidina-leucina y son conocidas como cadenas beta; ambas cadenas pueden ser disociadas por variaciones de pH. Una cadena alfa tiene 141 aminoácidos y un peso molecular promedio de 15,126, en tanto que las cadenas beta presentan 146 aminoácidos y un peso molecular promedio de 15,866; al tener cuatro cadenas y por cada una de ellas un grupo prostético hemo, tenemos que en una molécula de hemoglobina se encuentran cuatro grupos hemo.

Los eritrocitos tienen un promedio de vida muy corto de unos 120

días y al ser destruidos, la fracción porfirínica de la hemoglobina se desintegra para formar los pigmentes biliares biliiverdina y bilirubina, que son llevados al hígado para ser excretados por el intestino gracias a la bilis.

Una característica fisicoquímica interesante de la hemoglobina es su facilidad para combinarse con el oxígeno y formar oxihemoglobina; tal combinación no es merced a una reacción de óxido - reducción del hierro sino sólo una fijación del oxígeno por el hierro (Fe^{2+}). Así cuando la sangre es tratada con ozono, ferricianuro de potasio, cloratos nitratos, nitrobenzene o ácido pirogálico, se forma metahemoglobina en donde el hierro se ha oxidado a hierro 3+, (Fe^{3+}).

Un dato interesante consiste en que la hemoglobina diluida y llevada a un espectrofotómetro presenta tres bandas de absorción; una estrecha a 578 nm y otras dos más amplias a 542 y 415 nm, mientras que la hemoglobina sin oxígeno, sólo presenta una banda a 559 nm.

2.4 Métodos de Obtención, Purificación y Eliminación del Color

Existen diversos métodos para separar y purificar las fracciones que se pueden obtener de la sangre por centrifugación, de ellas la que ha presentado mayores problemas es el paquete globular, debido a su intenso color oscuro que la hace difícilmente aplicable en forma directa a los alimentos; problema que ha llevado a la realización de numerosas investigaciones para encontrar el método más práctico en la eliminación del color.

2.4.1 Extracción con Solventes

Tyber et al^{51,52} propusieron en 1975 un método para la preparación de aislados proteínicos de plasma y del paquete globular a nivel piloto; el diagrama de bloques se presenta en la figura 2.

La sangre se recolecta después del sacrificio y se mezcla con una solución al 0.85% de NaCl, que además contenga una relación de 0.02% de citrato de sodio, solución que actuará como anticoagulante. La mezcla debe mantenerse a una temperatura de no más de 5°C, debiéndose efectuar la centrifugación dentro de las 24 horas siguientes a la recolección. Una vez obtenidos el plasma y el paquete globular el primero es secado por aspersión, mientras que el segundo es sometido a una hemólisis, para lo cual se mezcla en un tanque con agua en una relación

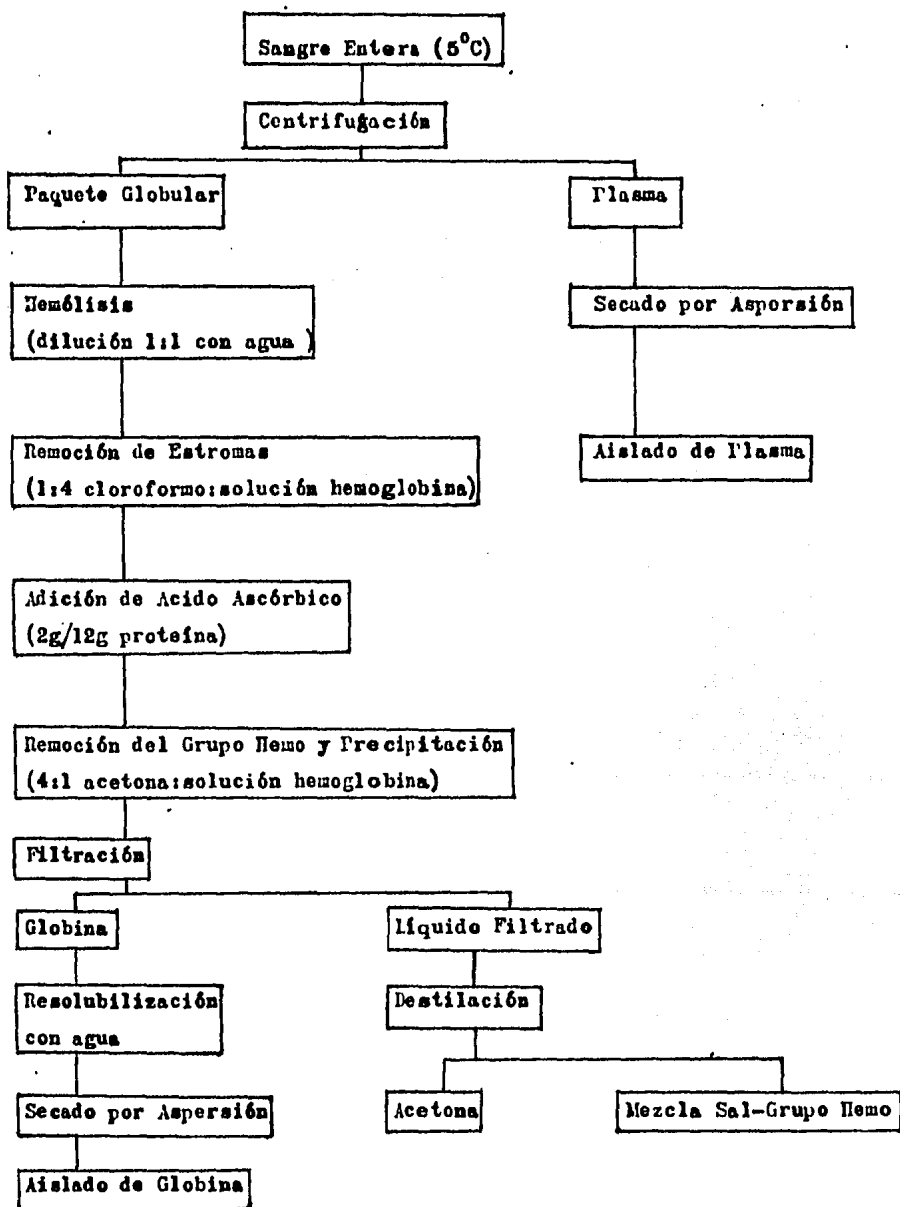


Fig 2. Obtención de Proteínas del plasma y de Globina, empleando la Extracción con Solventes.

1 : 1. El siguiente paso es la remoción de los estromas para lo que se pasa a otro tanque y se efectúa el mezclado con una solución de cloroformo, en una relación cloroformo : hemoglobina de 1 : 4.

Posteriormente se añade ácido ascórbico a la solución de hemoglobina, de modo que el pH descienda hasta 4.0; una vez alcanzado éste valor la suspensión hemoglobina-ácido ascórbico se bombea hasta un mezclador de alta velocidad, equipado con baffles. La función de los baffles es mejorar el contacto en el mezclador pues aquí la hemoglobina se convierte en coeglobina; el mezclador opera a una velocidad de 2500 r.p.m. de aquí, la solución cromoproteica es transferida a un segundo mezclador donde se agrega acetona acidificada, en una relación de 4 : 1 (acetona-solución coeglobina)

Esta segunda mezcladora, también está equipada con baffles y es operada a 5000 R.P.M., así el grupo prostético de la cromoproteína es eliminado y la globina precipita en contacto con la solución de acetona acidificada.

El siguiente paso es efectuar una filtración a través de muselina no decolorada, lavando continuamente con acetona acidificada adicional resolubilizando finalmente el precipitado en agua, para practicar un secado por aspersión, de donde obtendremos el aislado proteínico.

2.4.2 Obtención de Globina por Acción Enzimática

Este método se basa en la acción de una proteasa sobre el grupo prostético de la hemoglobina y ha sido comunicado por Novo Enzymes.³² El diagrama de bloques se presenta en la figura 3 y a continuación se describe el método.

La sangre recién recogida, a la cual previamente se le ha añadido un anticoagulante, se fracciona en plasma y paquete globular como ya se ha descrito (Cap 2, 2.1), la fracción plasmática es secada por aspersión o bien, congelada. El paquete globular se hemoliza por adición de agua (un 200% mínimo); un contenido de proteína del 8.0% es óptimo para el tratamiento enzimático así como para los procesos de purificación subsiguientes. Debido a que la concentración de sustrato es muy importante para el óptimo funcionamiento de la enzima, en dado caso que no se tenga un 8.0% de proteína con la dilución anterior se puede intentar la adición de un 300% de agua a una fracción celular con un 35% de hemoglobina.

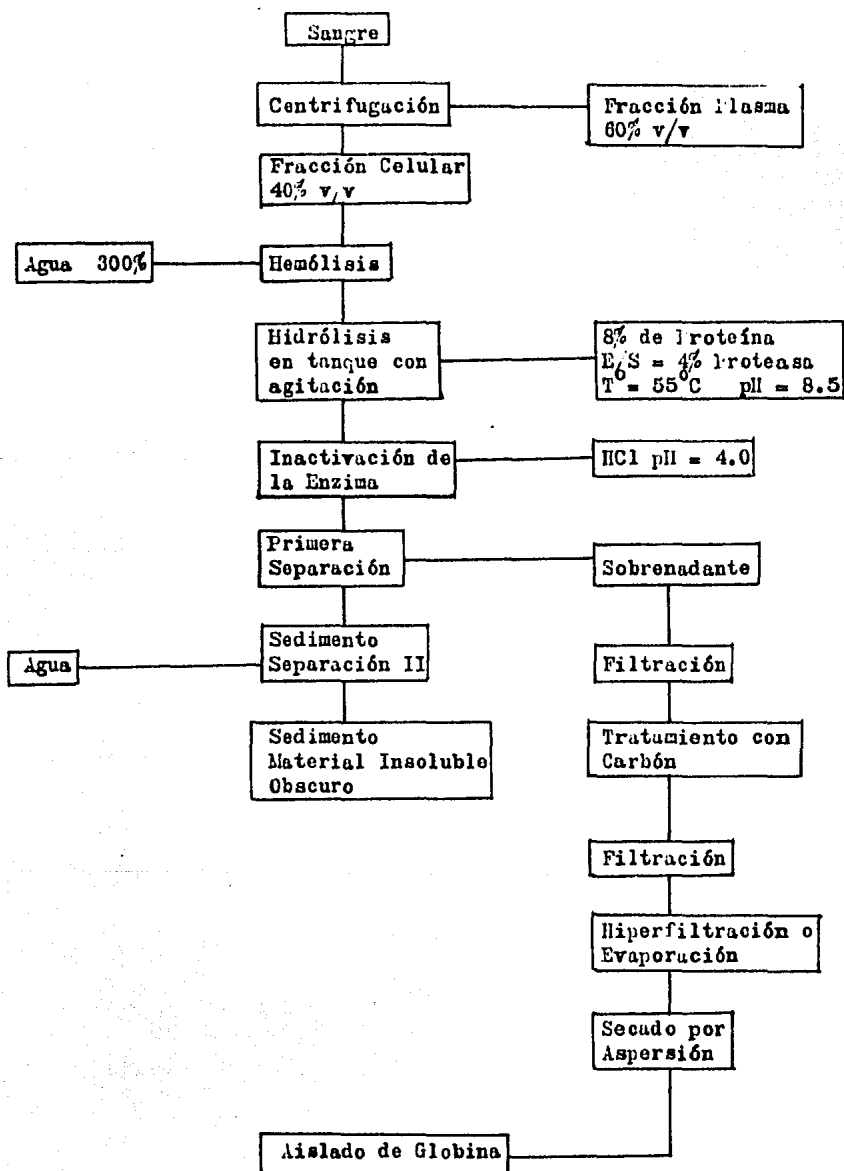
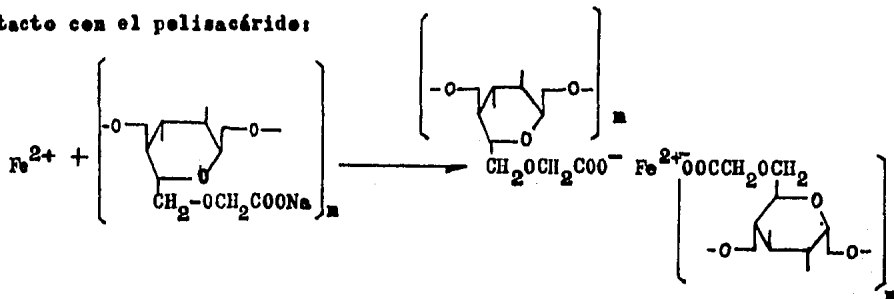


Fig 3. Obtención de Globina por el Método de Decoloración Enzimática.

La hidrólisis debe efectuarse a una temperatura de 55°C y con un pH de 8.5, empleando una dosis de la proteasa equivalente a 25 unidades Anson por kilogramo de protefina; esto es aproximadamente 1.5 kg de la proteasa conocida comercialmente como Alcalase^R (Endopeptidasa llamada subtilisina) por cada 100 kg de hemoglobina. La enzima es inactivada por la adición de ácido que hace descender el pH hasta 4.0, debiéndose mantener una temperatura de 55°C durante unos 30 minutos. A continuación se ajusta el pH a un valor comprendido en el intervalo de 4.5 a 5.0 y se vuelve a llevar a una centrifuga similar a la empleada para separar plasma y paquete globular; el sedimento se lava con agua una sola vez lo cual se hace con el fin de mejorar el rendimiento de proteínas, volviéndose a centrifugar después del lavado; entonces los dos sobrenadantes son mezclados y filtrados, obteniéndose una solución de color marrón claro. Si la solución obtenida es muy colorida, se puede eliminar el exceso de color empleando carbón activado en una cantidad de 1 kg por cada 100 litros de hidrolizado, teniendo cuidado de mantener el pH en 4.5 con una temperatura constante de 55°C durante una hora. Una vez realizado este paso, el hidrolizado se puede concentrar por ultrafiltración u ósmosis inversa, antes de ser enviado al secador por aspersión. En ocasiones antes de secar se mezcla con la fracción del plasma.

2.4.3 Precipitación con Carboximetilcelulosa

Un método reciente^{4,16} propuesto por Autio et al, recomienda la utilización de carboximetilcelulosa como agente precipitante del grupo hemo. Una vez obtenido el paquete globular por centrifugación y después de efectuada la hemólisis, el pH de la suspensión se ajusta por debajo de 3.0 con HCl; acto seguido se agrega una solución de carboximetilcelulosa (Hércules 12M31PD) al 0.5 % a la suspensión ácida en una relación de 15 gramos del hemolizado de paquete globular por 100 ml de solución de carboximetilcelulosa. El grupo hemo produce un precipitado al entrar en contacto con el polisacárido:



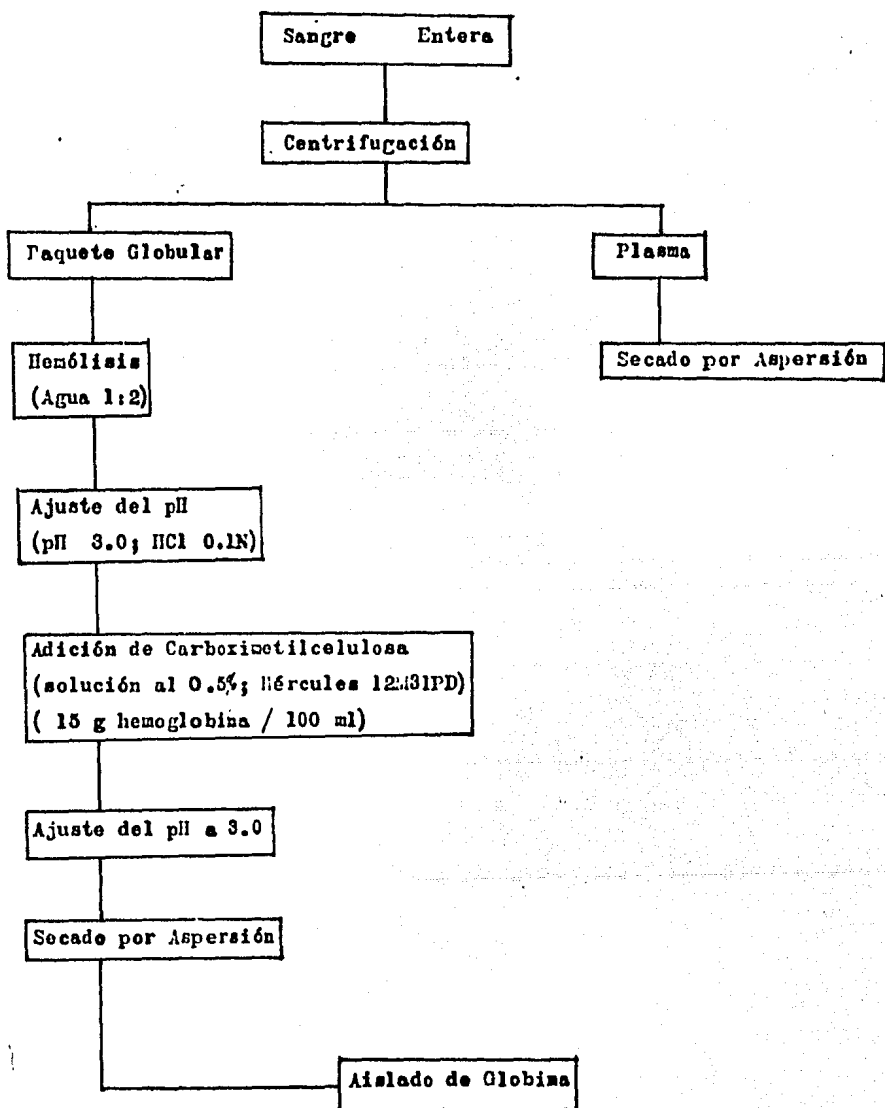


Fig 4. Obtención de Globina por el Método de Precipitación del Grupo hemo con Carboximetilcelulosa.

El proceso no implica reacciones de óxido-reducción; el precipitado se centrifuga y el pH se vuelve a ajustar a 3.0 para luego concentrar e secar por aspersión. El diagrama de bloques del proceso se presenta en la figura 4.

2.4.4 Decoloración mediante el Empleo de Peróxido de Hidrógeno

Este método propuesto por Cord et al.³³ se fundamenta en una reacción de óxido-reducción entre el hierro del grupo hemo que se encuentra en forma reducida (Fe^{2+}) y soluciones de H_2O_2 , con lo cual el hierro pasa a la forma oxidada (Fe^{3+}), eliminándose de ésta forma el color obscuro. Se puede obtener un producto de color amarillento con un rendimiento, en términos de proteína del 90.0%, cabiendo hacer la aclaración de que el hierro presente no es eliminado, sino sólo se cambia su estado de oxidación, efecto que más que benéfico puede resultar problemático. Las desventajas del método son la alta destrucción de algunos aminoácidos por la acción del peróxido de hidrógeno lo cual repercute en algunas propiedades funcionales como la solubilidad y disminuye el valor nutritivo de la proteína; por otro lado la presencia de hierro limita la utilización del aislado como emulsificante o como aditivo en sistemas que involucren lípidos, y sobre todo aceites.

3. Propiedades de las Proteínas del Plasma

3.1 Solubilidad

Probablemente la solubilidad sea una de las más importantes propiedades de las proteínas, pues con ella se relacionan otras muchas y sobretodo las espumantes y las ligantes de agua. La solubilidad de las proteínas varía a lo largo de la escala de pH, de modo que es importante conocer el comportamiento de las proteínas del plasma frente a él.

Para determinar la solubilidad del aislado proteínico de plasma se emplea el método propuesto por Lawhon y Cater,²³ que consiste en preparar soluciones de proteína con agua destilada y deionizada, ajustando el pH desde 2.0 hasta 10.0, para lo cual se recurre a soluciones 1 N de HCl o NaOH; la cantidad total de proteína soluble se determina por el método de Lowry, con la ayuda de un espectrofotómetro. Existen algunos otros métodos como el índice de solubilidad de nitrógeno y se encuentran reportados en la literatura.¹

La mínima solubilidad para las proteínas del plasma la encontramos a un pH de 4.8 en donde sólo un 74.0% de la proteína total es soluble; en términos generales se puede decir que la solubilidad es mayor del 90.0% a pH menores de 4.0 y mayores de 5.5, sin embargo se puede concluir que la solubilidad de las proteínas del plasma es poco afectada por los cambios de pH.

Un factor muy importante en la solubilidad de las proteínas del plasma es el tipo y la temperatura del secado.³⁸ Una alta temperatura de secado reduce la solubilidad, así al secar por aspersión el plasma a temperaturas comprendidas entre los 160 y 193°C se presenta una reducción de proteína soluble de hasta un 20.0%, cuando se compara contra un patrón de proteína liofilizada.⁵² Para reducir el efecto adverso de la temperatura de secado sobre la solubilidad de las proteínas se ha propuesto el empleo de agentes protectores, los cuales a la vez que protegen no ejercen efectos adversos en el aislado proteínico. Uno de éstos agentes es la lactosa, la cual adicionada en una relación de 1:1, mejora la solubilidad en proteínas secadas a 193°C, comparando contra pruebas a las que no se les adiciona agente protector.⁵²

Se cree que el efecto de la lactosa es prevenir la polimerización de enlaces disulfuro en las proteínas, pues al presentarse tal efecto acarrea una disminución en la solubilidad.

En la figura 5 se muestra el efecto de la temperatura y de la incorporación de lactosa en la solubilidad de las proteínas del plasma.

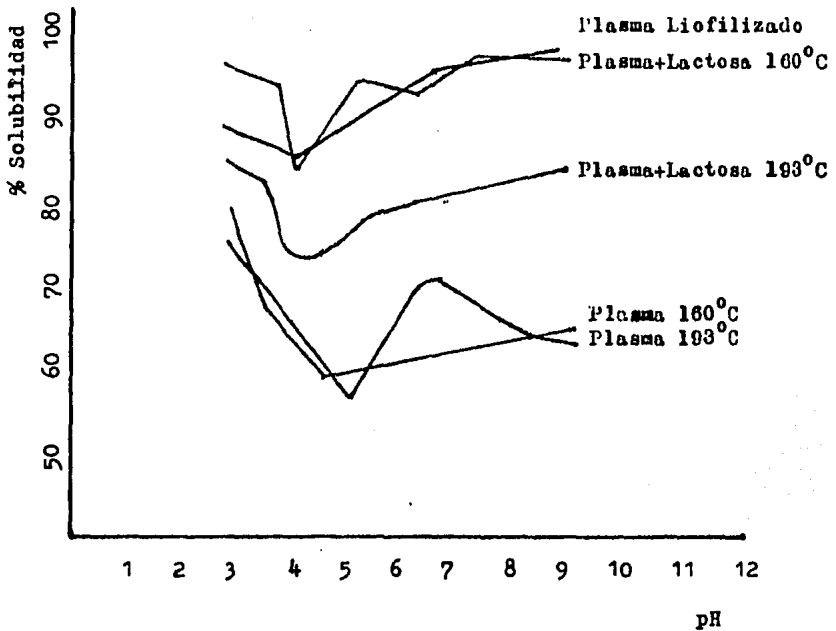


Fig 5. Efecto de la incorporación de lactosa y de la temperatura de secado sobre la solubilidad de las proteínas del plasma

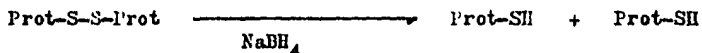
3.2 Propiedades Antioxidantes

Las propiedades antioxidantes de las proteínas y aminoácidos han sido estudiadas en los últimos diez años; entre los aminoácidos con propiedades antioxidantes tenemos: la cisteína, la metionina, la histidina, el triptófano y la lisina. Algunas proteínas e hidrolizados proteínicos han logrado inhibir la autooxidación de la vitamina A específicamente algunas ovoalbúminas y caseínas.

Los sulfhidrilos o tioles (-SH) son grupos funcionales que bloquean los radicales libres, resultando su acción de la donación de iones de hidrógeno (H^+) a los radicales libres impidiendo de esta forma las reacciones de propagación.

La cisteína reacciona con derivados del ácido linoleico, dando algunos aductos (complejo de adición formado al reaccionar un compuesto con dobles ligaduras alternas y otro insaturado) cisteína-ácido graso.

La seroalbúmina bovina no posee grupos sulfhidrilo libres, sin embargo al reducir los puentes disulfuro presentes en gran cantidad, bien sea con un fuerte calentamiento o con un agente reductor poderoso como lo es el $NaBH_4$, se presenta un incremento de grupos sulfhidrilo libres aumentando también la capacidad antioxidante.⁴⁸ El mecanismo de acción es el siguiente:



La solubilidad de la seroalbúmina bovina no se ve afectada con la reducción de puentes disulfuro, factor que sí afecta a otras proteínas con gran cantidad de éstos enlaces como la ovoalbúmina.

Se ha comprobado que los grupos sulfhidrilo son los responsables de la mayor o menor capacidad antioxidante de una proteína, al agregar ácido yodoacético, agente que bloquea a éstos radicales se ha observado la casi total eliminación de la actividad antioxidante.^{48,55}

La actividad antioxidante óptima reportada para la seroalbúmina es a un pH de 8.6, pero existe una protección apreciable a pH menores.

En la siguiente tabla se presentan algunas proteínas con elevada capacidad antioxidante expresada ésta como índice de protección y con su relación de grupos sulfhidrilo libres.

PROTEINA	CONFORMACION		REDUCCION S - H	INDICE	
	NATIVA			DE	
	S - S	S -H		PROTECCION*	
Serealbúmina					
Bevina	18	0	36	1.00	0.0
				2.01	12.0
				4.41	39.0
				8.56	88.0
Ribonucleasa					
	4	0	8	1.00	0.0
				1.37	7.0
				3.50	34.0
				4.14	54.0
Lisozima					
	4	0	8	1.00	0.24
				4.32	32.0
				5.11	40.0
Tripsina					
	6	0	12	1.00	2.5
				2.80	27.0
Metafetionina					
	0	20	20	-	-

*siendo el indice de proteccíon:

Oxidación de la emulsión
con antioxidante

Oxidación de la
emulsión control

Tabla I. Proteínas con alta actividad antioxidante, su contenido de enlaces S - S así como de S - H libres relacionado con el indice de proteccíon.⁴⁸

3.3 Propiedades Emulsificantes

Las proteínas solubles son tensoactivas por la presencia de cadenas hidrofílicas e hidrofóbicas, y es debido a ésta solubilidad que promueven la formación de emulsiones aceite en agua; de donde se esperaría que estabilizaran y formarían emulsiones como una expresión de su arreglo físicoquímico.³⁶

Las proteínas del plasma son excelentes agentes emulsificantes y presentan capacidades de emulsificación y estabilidades iguales o mejores que las proteínas musculares y de otros órganos.³⁹ Los aislados proteínicos del plasma bajo adecuadas condiciones de pH y de concentración pueden ser empleados como emulsificantes en diversas formulaciones de alimentos.

La capacidad de emulsificación es particularmente sensible a las condiciones de proceso y sobretodo a las condiciones de secado.^{36,52} Los estudios de Tybor et al evaluaron los efectos de la temperatura en el secado por aspersión de plasma bovino, así como el efecto protector de la lactosa empleada como agente acarreador.

Para evaluar la capacidad emulsificante de las proteínas del plasma Tybor et al⁵² formaron emulsiones a distintos valores de pH hasta llegar a un pH de 9.4, donde la capacidad emulsificante de éstas proteínas exhibe la mejor respuesta a la concentración de proteína. Como se aprecia en la figura 8 las curvas de capacidad emulsificante son hiperbólicas y siguen el patrón de suero bovino liofilizado utilizado como control.

Los aislados proteínicos de plasma nativo y de plasma con incorporación de lactosa como agente acarreador, así como el control de plasma liofilizado se acercan a la fase máxima teórica de aceite según Becher¹³ a una concentración de proteína de 0.5 g/ 100 ml; sin embargo no se observan efectos negativos en la capacidad emulsificante en aislados secados a 160°C o 193°C, como tampoco se observan efectos protectores de la incorporación de lactosa y secado bajo las mismas temperaturas.

Cabe hacer notar que si bien la solubilidad se relaciona estrechamente con las propiedades emulsificantes de una proteína, no es por sí misma suficiente para predecir el poder de emulsificación.²⁹

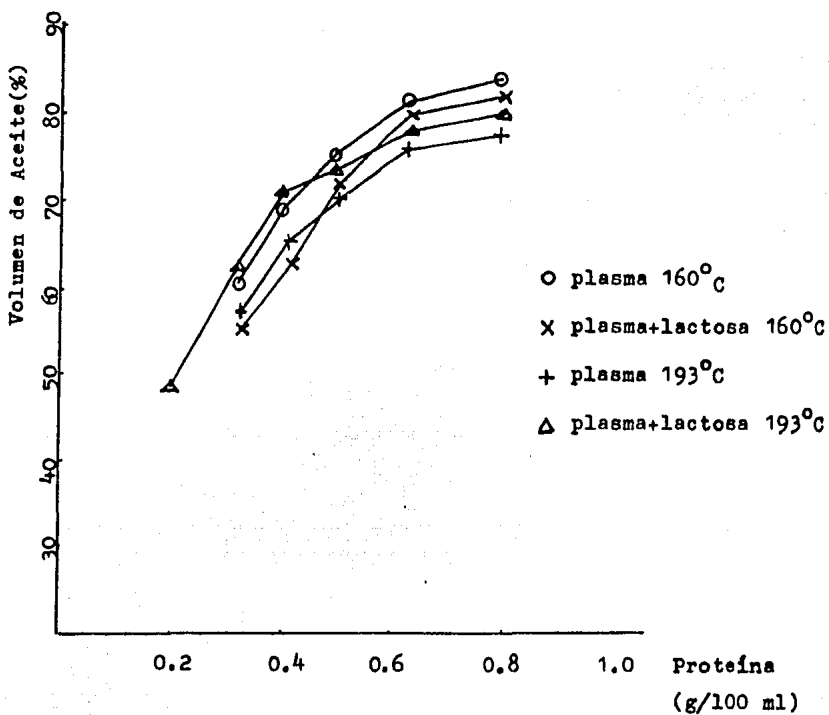


Fig 6. Efecto de la Temperatura de secado y de la Incorporación de Lactosa en la Capacidad Emulsificante del Plasma.

3.4 Propiedades de Formación de Geles

Las proteínas presentan, frente al agua un comportamiento similar al que muestran los almidones; esto es, a temperatura ambiente se dispersan simplemente en el agua, pero al elevar gradualmente la temperatura las cadenas de la proteína se abren perdiendo su arreglo original y comienzan a absorber moléculas de agua; entonces se hinchan hasta llegar a un punto de equilibrio, en ésta etapa la viscosidad y las características de la dispersión han cambiado y, dependiendo de la concentración temperatura y otros factores, se puede obtener un gel.^{24,36}

Así con el calentamiento las proteínas del plasma tienen la propiedad de formar suspensiones coloidales cuya reología varía de ligeramente viscoso hasta una pasta semisólida, lo cual ocurre por una polimerización debida a la condensación de grupos amino con grupos carboxilo.

El gel atrapa la grasa y el agua, las cuales liberadas de la matriz cárnica (en el caso de productos cárnicos) hacen del sistema un complejo gel-emulsión.¹³

En cuanto a la temperatura necesaria para observar cambios tenemos que a temperaturas de entre 50 y 60°C no ocurre gelificación, ni ocurren cambios apreciables; las variaciones de viscosidad se presentan a los 65°C y se requiere una temperatura de por lo menos 75°C para la formación del gel; sin embargo se ha observado que un calentamiento mayor, de hasta unos 95°C mejora y aumenta la consistencia del gel. A ésta temperatura una suspensión con proteínas de plasma es 1.5 veces más firme que suspensiones de otras proteínas.

Existen diversos factores que afectan la textura del coloide como lo son:

- a) La concentración de proteína en la suspensión
- b) La temperatura a la que se mantiene la suspensión
- c) El período que se mantiene la suspensión a una determinada temperatura.

En la figura 7 se muestra el efecto de la concentración de proteína en la viscosidad; como se puede observar la viscosidad aumenta al aumentar la concentración de proteína hasta hacerse asintóticas, es decir que la viscosidad es independiente del tiempo.¹⁵ Al ser las curvas similares a aquellas de la cinética enzimática se pueden representar como se observa en la figura 8.

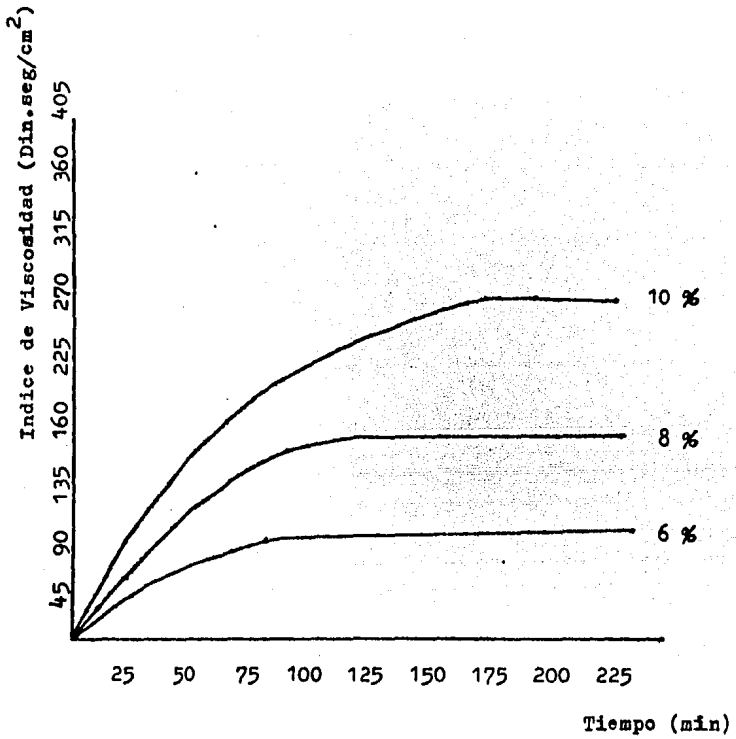


Fig 7. Efecto de la concentración de proteína (plasma) en la viscosidad de la solución mantenida a 80°C

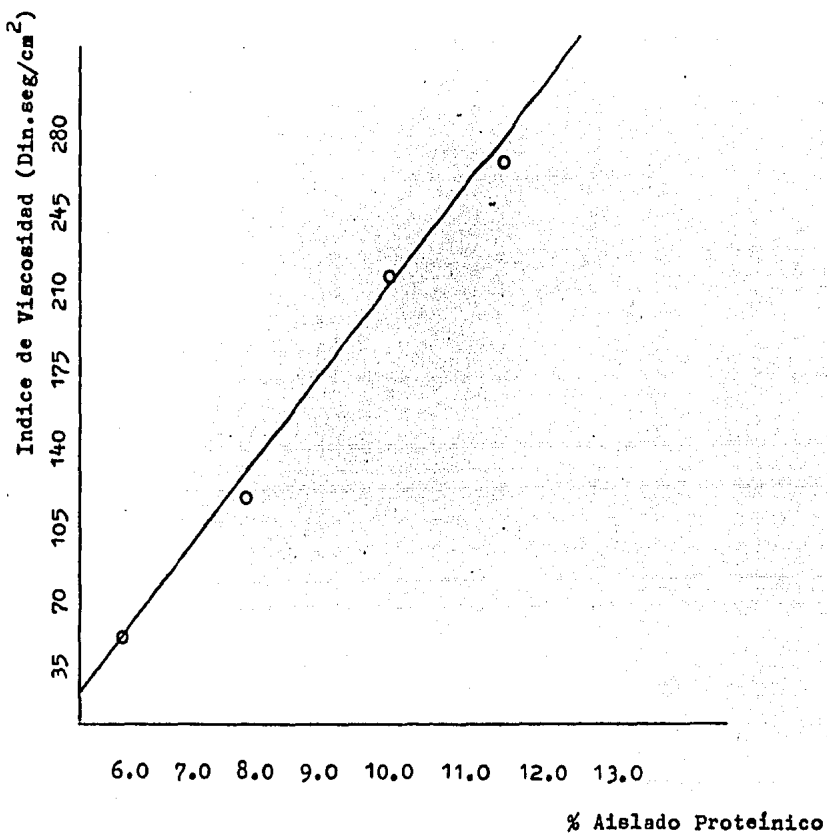


Fig 8. Viscosidad asintótica contra % de aislado proteínico en soluciones mantenidas a 80°C

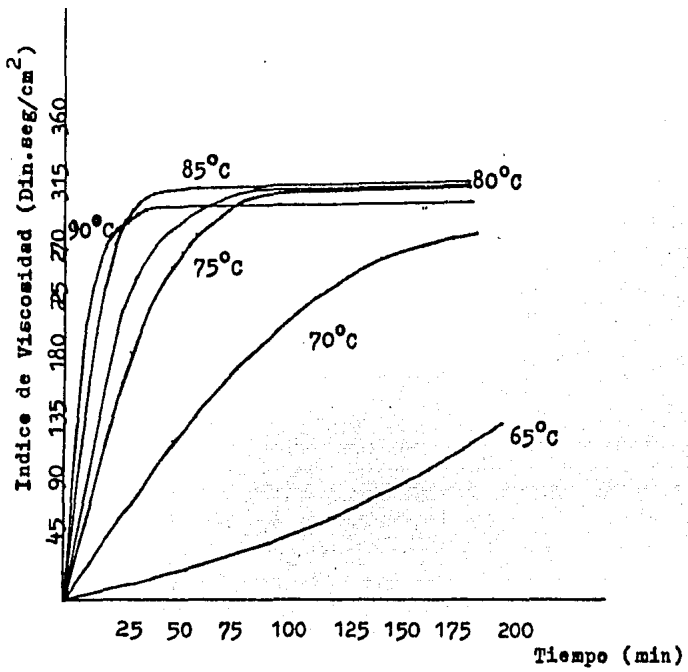


Fig 9. Efecto del calentamiento a diversas temperaturas sobre la viscosidad de suspensiones de plasma al 12 %.

3.5 Propiedades Espumantes

Las proteínas por su estructura misma actúan como agentes espumantes, y en general se puede decir que un buen agente emulsificante es también un buen agente espumante, puesto que la estabilidad de una espuma depende de factores similares a aquellos de los que dependen las emulsiones.⁴³

Dentro de la medición de la capacidad espumante de las proteínas los términos más empleados son: el % de incremento en volumen³⁷ y el % de variación de volumen.⁵²

El % de incremento de volumen se refiere al cambio neto de volumen después del mezclado de una suspensión de la proteína en cuestión y se calcula:

$$\% \text{ Incremento de Volumen} = \frac{\text{Volumen después de mezclar} - \text{Volumen antes de mezclar}}{\text{Volumen antes de mezclar}} \times 100$$

El % de variación de volumen, que expresa la variación del volumen con respecto al tiempo y es una medida de la estabilidad de la espuma formada, se calcula gracias a la expresión:

$$\% \text{ Variación de Volumen} = \frac{\text{Volumen inicial} - \text{Volumen final en "t" tiempo}}{\text{Volumen inicial}} \times 100$$

Al graficar el volumen de espuma contra la concentración de proteína de plasma se obtiene una respuesta hiperbólica, misma que también se encuentra para la albúmina de huevo^{51,52} como se observa en la gráfica de la figura 10. La máxima capacidad espumante para el plasma se presenta a una concentración de proteína del 1.7 %, con un volumen máximo de 120 ml; la capacidad espumante del plasma es equivalente a la de albúmina de huevo en cada concentración.

Las proteínas del plasma presentan una respuesta lineal con pendiente negativa, al variar el pH; ésto es, al incrementar el pH de 4.0 hasta 10.0 su capacidad espumante va disminuyendo, así el volumen de espuma de crece de 133 ml a un pH de 4.0 hasta 108 ml, obtenidos a un pH de 9.6. La capacidad espumante de las proteínas del plasma es mucho menor que la de globina a la misma concentración como se ve en la figura 11 (Capítulo 4; 4.4) y mientras ésta última parece seguir el perfil de solubilidad no sucede tal efecto con las proteínas del plasma.

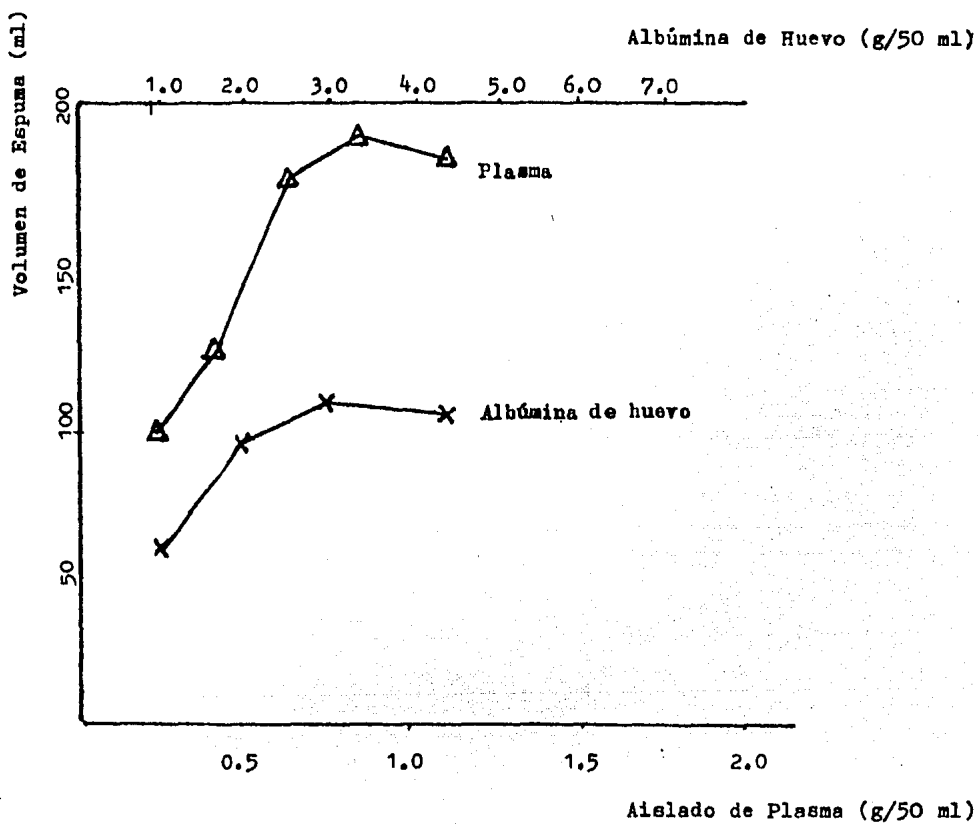


Fig 10. Capacidad espumante de la albúmina de huevo comparada con un aislado de plasma

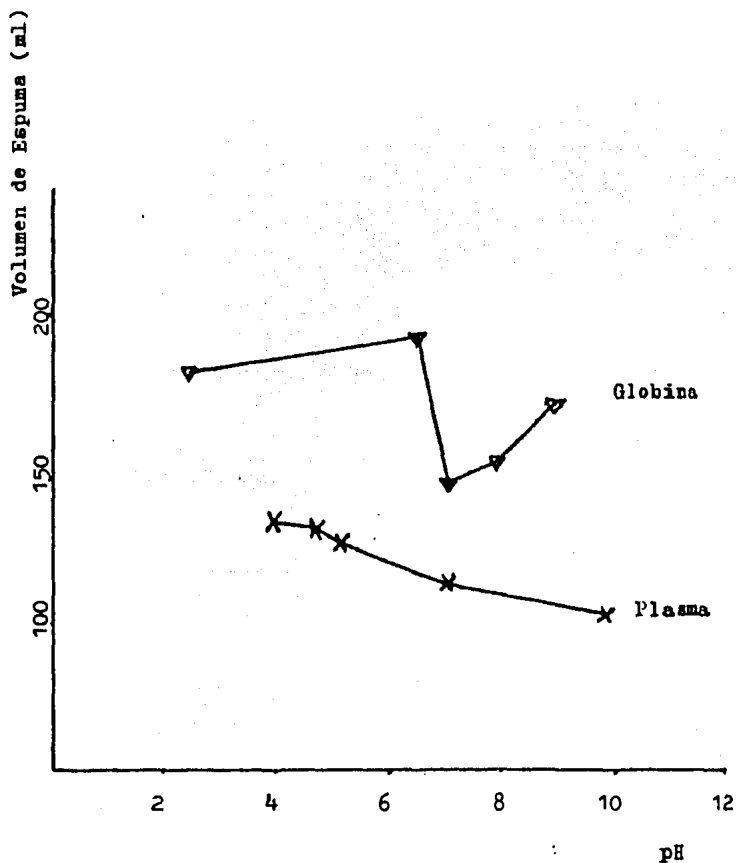


Fig 11. Efecto del pH en la capacidad espumante de las proteínas del plasma y de globina.

3.6 Propiedades como Amortiguador

La gran capacidad de las proteínas como amortiguadores en sistemas alimenticios abre nuevas posibilidades de utilización para los aislados proteínicos, especialmente en aquellos alimentos en los que se emplean grandes cantidades de ácido y no se desea efectuar ningún tipo de reacción de neutralización para no perjudicar desde el punto de vista sensorial al producto.

Para la evaluación de las propiedades amortiguadoras de las proteínas se puede emplear el método de Morr et al,²⁸ el cual consiste en dispersar el concentrado proteínico en agua destilada y deionizada a una concentración del 0.5% de proteína. Se determina entonces el pH inicial y se titulan alícuotas hasta llegar a un pH de 3.0 empleando ácido clorhídrico 0.1 N o bien hasta un pH de 8.0 con NaOH 0.1 N.

La capacidad amortiguadora se expresa mediante la siguiente relación:

$$\text{dB/dpH} = \frac{\text{MILIEQUIVALENTES DE TITULANTE}}{\text{PESO DE LA PROTEINA (g) X pH}}$$

Los resultados obtenidos pueden graficarse, dB/dpH contra pH como se muestra en la figura 12, donde encontramos la capacidad amortiguadora para las proteínas del plasma bovino.¹⁰ Debajo de un pH de 5.0 la proteína tiene gran capacidad como amortiguador; del mismo modo existe una bien definida actividad amortiguadora en un rango de 5.0 a 7.0. Cuando la proteína ha sido obtenida en forma de complejo metafosfato la capacidad amortiguadora mejora notablemente, debido precisamente a la presencia de éstos radicales.

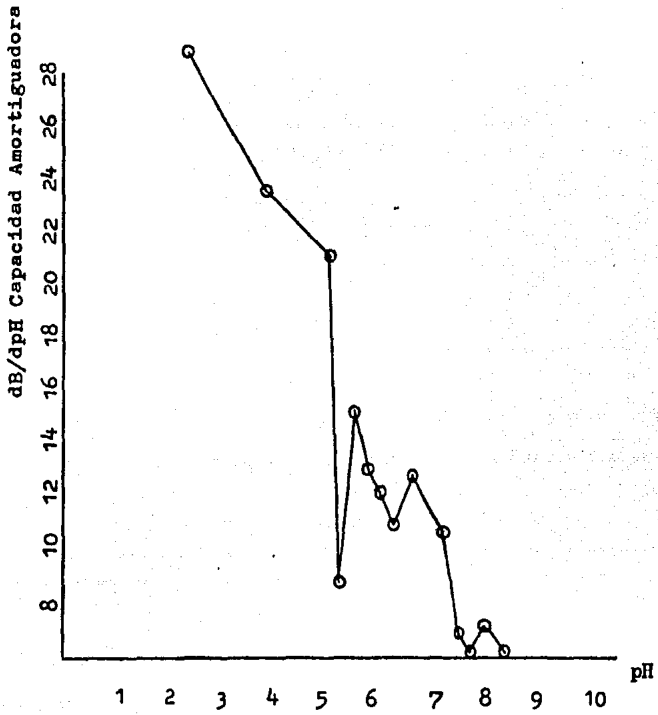


Fig 12. Efecto del pH en la capacidad amortiguadora del plasma.

3.7 Propiedades como Saborizante de Reacción

En 1979 Fretheim et al.¹² intentaron producir un sabor de reacción con características cárnicas a partir de sangre entera de bovino y de plasma, para lo cual se sometió la mezcla a una hidrólisis con ácido clorhídrico a una temperatura de 115 - 120°C en un recipiente cerrado durante 12 horas. El factor de variación fué la relación plasma - ácido clorhídrico, partiendo de una relación 1 : 10; el mejor sabor se logró con una relación de 1 : 1.7 con la desventaja de que la neutralización final produce un producto extraordinariamente salado, problema que es posible corregir mediante el empleo de una ósmosis inversa. La relación plasma - ácido que mejores resultados ofreció fué de 1 : 3.

Al aumentar la concentración de ácido, la cantidad de proteína precipitable con ácido tricloroacético disminuye; en contraste, la recuperación de proteínas en el sobrenadante demuestra que una concentración de ácido clorhídrico intermedia, brinda mayor cantidad de proteína soluble.

Una gran desventaja de éste método es que desde el punto de vista nutricional, la hidrólisis destruye el valor nutritivo de las proteínas ya que algunos aminoácidos son degradados. La utilización de mejores métodos de hidrólisis como sería el caso de una hidrólisis enzimática controlada puede resultar en un sensible mejoramiento del producto, recomendándose además el tratamiento con vapor de agua con el objeto de eliminar malos olores.

El fundamento de éstas investigaciones radica en el hecho de que algunos compuestos azufrados derivados de la cisteína son responsables de fuertes aromas y sabores cárnicos.⁴⁹ Es interesante hacer notar que un sistema a base de ácido sulfhídrico (H_2S) proveniente de cisteína, mezclado con amoníaco, acetaldehído y 2,3 pentadióna producen tiazoles y tiazolidinas que proporcionan sabores y aromas cárnicos; la secuencia de reacciones propuesta se presenta en la figura 13. Por otro lado la cisteína puede jugar un papel secundario reaccionando con otros compuestos para formar volátiles responsables de notas cárnicas más específicas como res e pelle.

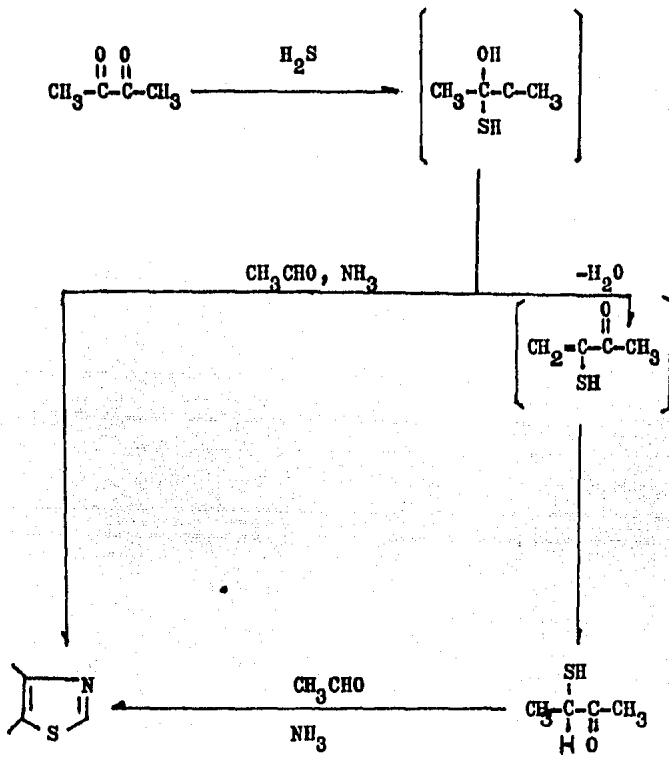


Fig 13. Vía Propuesta para la Formación de Tiazol, Tiazolidinas y Mercapto cetonas, responsables de Sabores y Aromas Cárnicos Partiendo de Acido Sulfidrico Proveniente de Proteínas (Plasma).

4. Propiedades de la Globina

4.1 Solubilidad

La solubilidad de la globina puede expresarse como el índice de solubilidad de nitrógeno,⁴ y en conjunto con otras propiedades como las espumantes y emulsificantes así como sus interrelaciones determinan la utilidad de la proteína en sistemas alimenticios.

La globina, en función del pH presenta un mínimo de solubilidad en un rango que va de 7.0 a 9.5, lo cual puede ser debido a la interacción del ácido acético y la acetona,⁵² cuando la globina se ha obtenido por el método de extracción con solventes; la presencia de ácido acético puede resultar en un incremento de la repulsión electrostática que afecte a la globina y prevenga su agregación. En contraste con las proteínas del plasma la globina es soluble a un pH menor de 4.0 y mayor de 11.0, sin embargo la mayor o menor solubilidad dependen como ya se ha visto anteriormente tanto de las condiciones de secado como de la presencia de agentes acarreadores.⁵²

A valores de pH de entre 5.0 y 6.0 la molécula tiene una carga positiva; la globina es mucho menos resistente a los agentes desnaturizantes que la hemoglobina. A un pH de 7.0 la solubilidad es del 10% mientras que para la hemoglobina es del 80.0 %; así la adición de NaCl hace decrecer mucho la solubilidad y a una concentración de NaCl equivalente a 1 M, la solubilidad de la globina decrece hasta un 100 % comparada con su valor normal.

En la figura 14 se puede observar la solubilidad de la globina a lo largo de la escala de pH así como el efecto de la adición de NaCl.

4.2 Propiedades Ligantes de Agua

La globina secada por aspersión presenta excelentes propiedades ligantes de agua; al ser comparada contra un estándar de globina liofilizada ésta última presenta menor capacidad, lo cual se debe probablemente a variaciones en la porosidad obtenida por ésta técnica de secado.

En la figura 15 se presenta la capacidad ligante de agua para diferentes proteínas como la lactoalbúmina, glutelina y proteínas de soya.^{4,41}

La adición de cloruro de sodio disminuye la capacidad de retención de agua, especialmente a concentraciones mayores de 0.2 M; la razón de tal efecto reside en que la sal comunmente resalta la tendencia a la

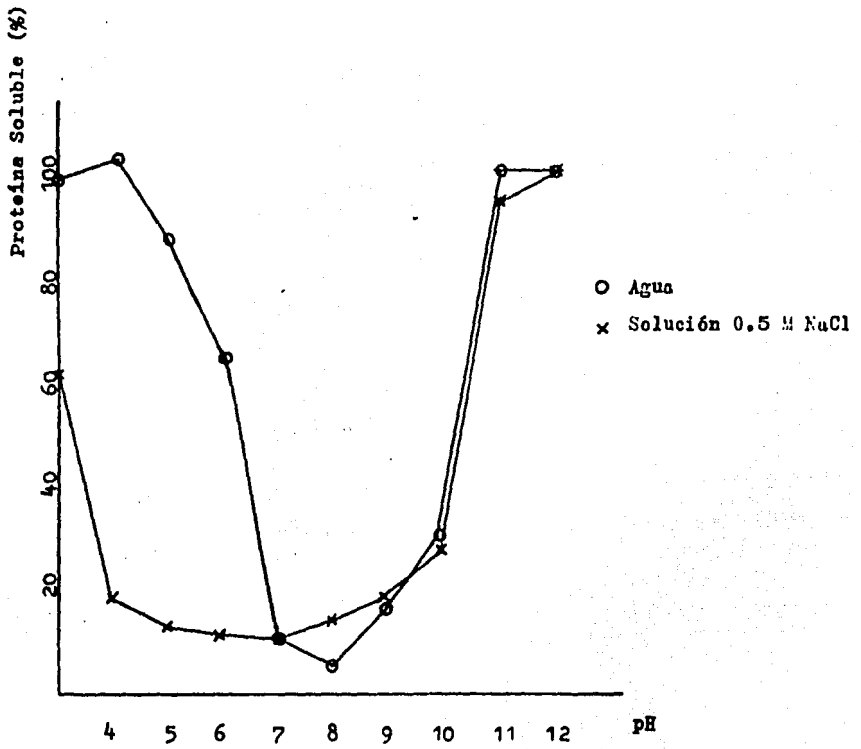


Fig. 14 Solubilidad de la Globina como Función del pI en agua y en una Solución 0.5 M de NaCl

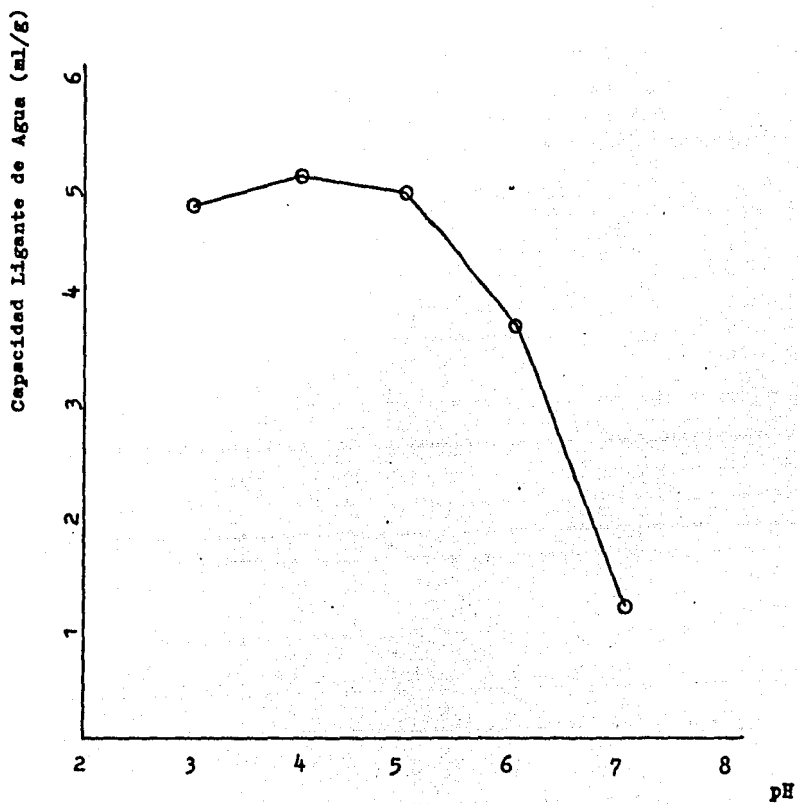


Fig 15. La Capacidad Ligante de Agua de la Globina en Función del pH

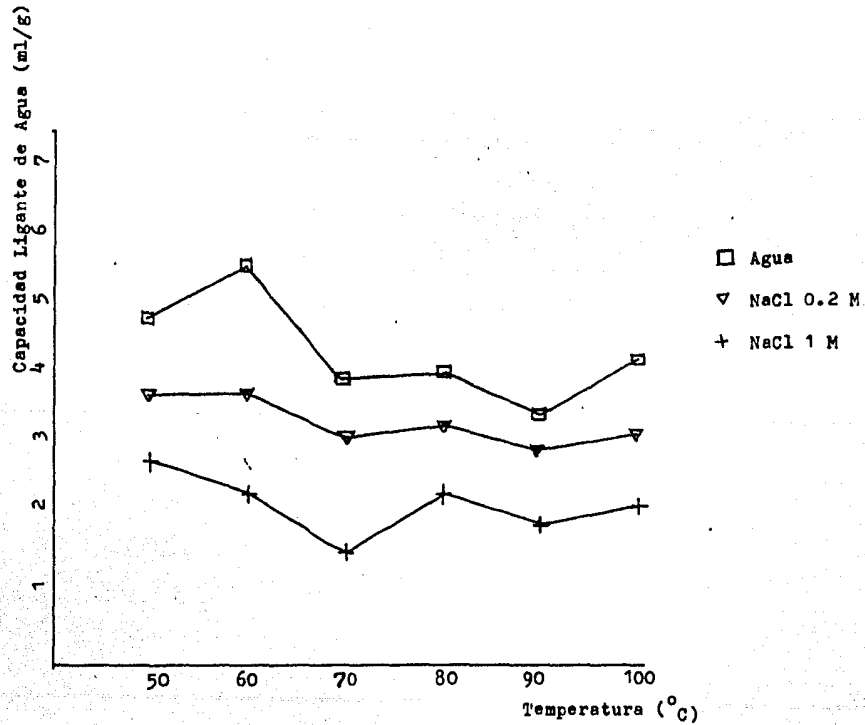


Fig 16. Efecto del Pre calentamiento (30 min) En la Capacidad Ligante de Agua de la Globina, tanto en Agua como en presencia de NaCl.

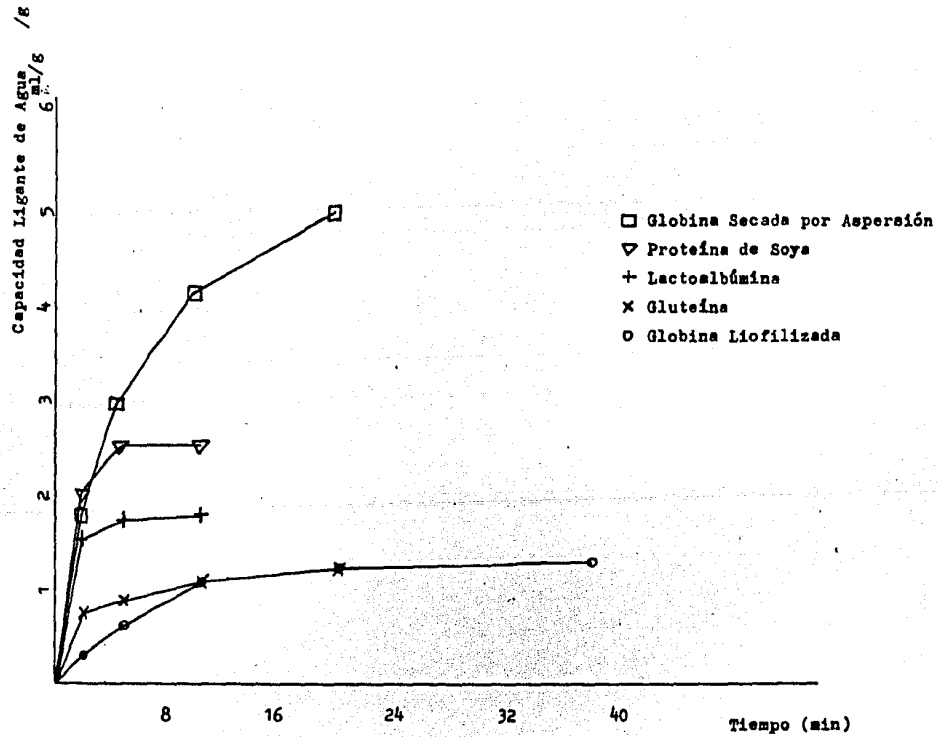


Fig 17. Capacidad Ligante de Agua de Globina Secada por Diferentes Métodos Comparada con otras Proteínas

agregación en desorden por efecto iónico causando una disminución en la capacidad ligante de agua. Del mismo modo que la solubilidad, las capacidades ligantes de agua disminuyen cuando el pH es incrementado hasta llegar a valores cercanos al punto isoeléctrico, mientras es ligera a un pH de 7.0.

Un precalentamiento de la proteína en agua hace decrecer su capacidad ligante de agua hasta en cantidades de 2.0 ml/g, tal precalentamiento debe hacerse a temperaturas mayores de 60.0°C, éste efecto es muy similar al ejercido por el NaCl, pero con una influencia menos marcada.

La capacidad de hidratación o capacidad ligante de agua de la globina es de unos 3.2 ml/g y se determina mediante el método propuesto por Quinn et al, éste valor es comparable al de algunos concentrados proteínicos de oleaginosas.

En las figuras 16 y 17 se muestran las relaciones entre la capacidad ligante de agua y el pH, así como el efecto de un precalentamiento.

Estos resultados indican que la globina puede tener un uso potencial en sistemas semisólidos, pues su gran capacidad ligante de agua es relativamente estable al pH y a bajas concentraciones de sal, así como al tratamiento térmico.^{4,41,52}

4.3 Propiedades Emulsificantes

4.3.1 En Globina Nativa

Una tarea particularmente difícil es efectuar comparaciones sobre las capacidades emulsificantes de la globina dado que en diferentes estudios²⁹ los resultados dependen del tipo de proceso para la obtención del aislado o concentrado proteínico, de las velocidades de mezclado, del método empleado en la valoración de las propiedades emulsificantes, del tipo de aceite utilizado etc.

Las proteínas de la sangre (tanto del plasma como del paquete globular) presentan buenas propiedades emulsificantes; incluso existen en algunos países europeos métodos industriales destinados a la obtención de emulsiones para la industria cárnica.²⁹

Se ha estudiado el efecto de la concentración de proteína en la capacidad emulsificante (figura 18).

El índice máximo de capacidad emulsificante se presenta a una con-

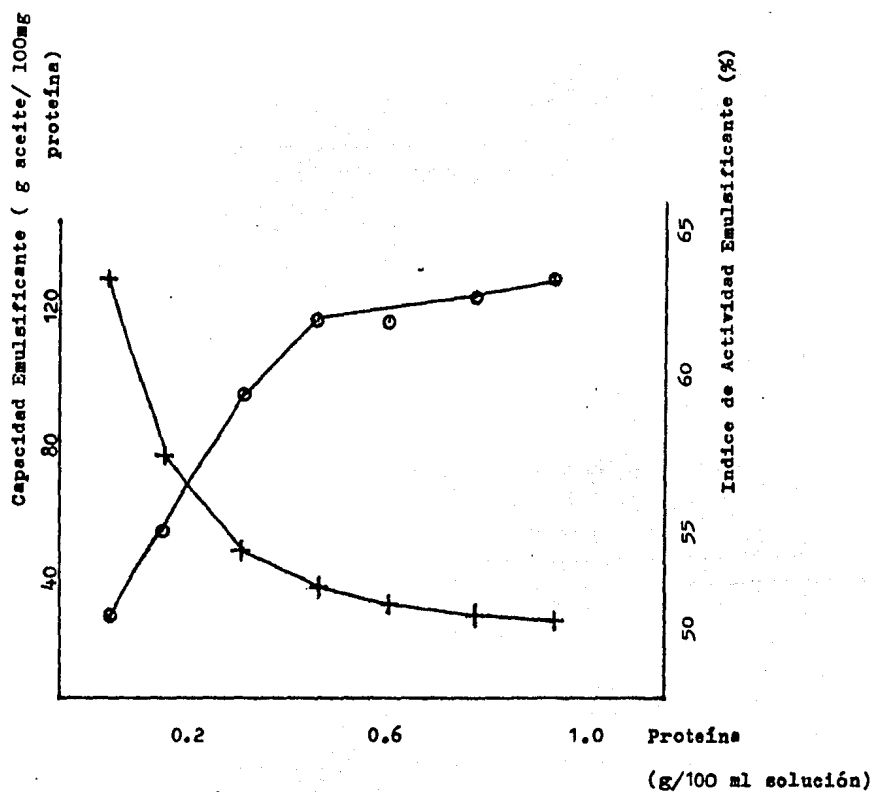


Fig 18. Efecto de la Concentración de Globina en su Capacidad Emulsificante.

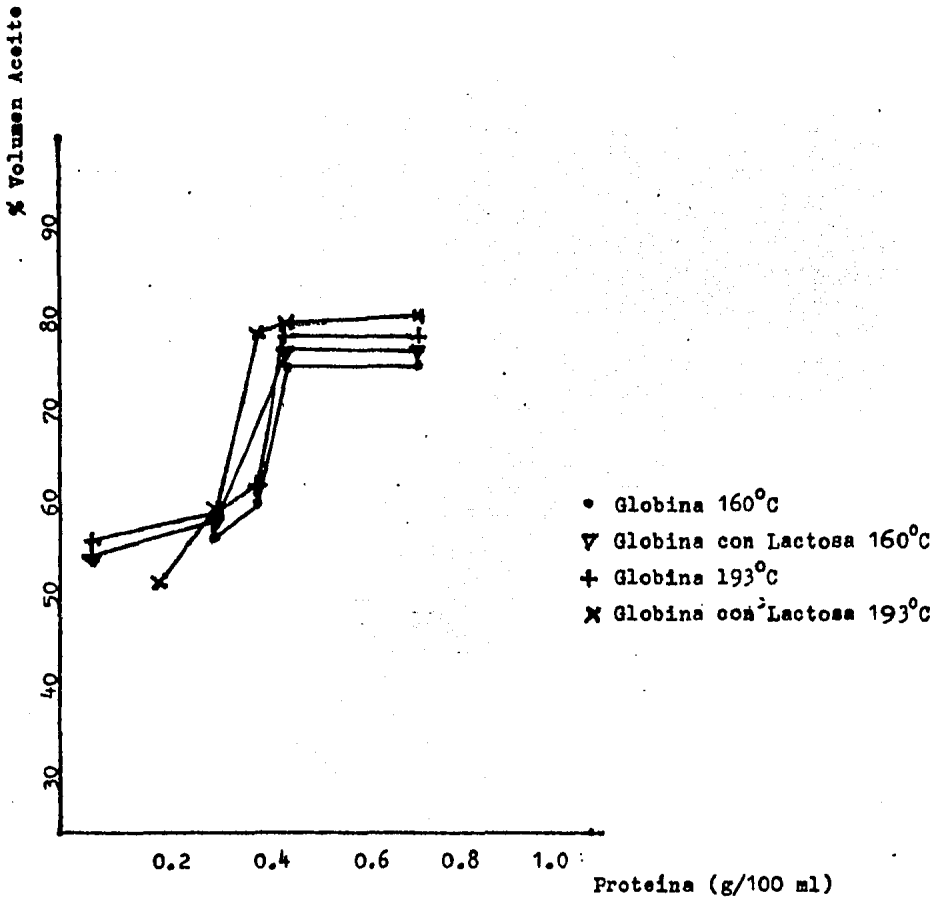


Fig 19. Efecto de la Temperatura de Secado y de la Incorporación de Lactosa en la Capacidad Emulsificante de la Globina.

concentración de 0.5 g/ 100 ml de emulsión; al aumentar ésta concentración no se presentan diferencias significativas en cuanto a efecto sobre la capacidad emulsificante. Al centrifugar la emulsión formada, su volumen se reduce a un 68.0 % del volumen original, valor que resulta mayor al mostrarse por aislados de semillas de oleaginosas.

También se ha estudiado el efecto del pH en la actividad emulsificante como se puede observar en la figura 19; su forma es muy similar a la curva de dependencia de solubilidad en función del pH en soluciones acuosas.

Para tratar de demostrar las excelentes propiedades emulsificantes de la globina se han preparado emulsiones tipo mayonesa⁴, para lo cual se emplean soluciones al 0.6 % de proteína en agua y emulsificante con 200 ml de aceite de soya, agregando a una tasa de 30 g de aceite / minuto; homogenizando con un mezclador Pelytren a una velocidad de 10000 r.p.m., la emulsión así formada se evalúa mediante una prueba de congelada a -4°C. Tyber et al⁵² estudiaron el efecto de la adición de lactosa como agente protector durante el secado por aspersión de la globina, sin encontrar beneficio alguno en lo que se refiere a la protección de las propiedades emulsificantes del aislado.

4.3.2. Mejoramiento de las propiedades emulsificantes de la globina.

Debido a que la mayor o menor actividad emulsificante depende de la solubilidad y sobre todo a su punto isoelectrico (alrededor de 7.0) existen algunas alternativas de modificación en la estructura de la proteína con el fin de aumentar su capacidad de emulsificación:

- a) Mediante una modificación química empleando anhídrido acético.
- b) Mediante una modificación enzimática, con pepsina.

Cuando la globina es tratada con anhídrido acético, las fracciones e-lisina presentes en la proteína son acetiladas, modificándose de este modo su solubilidad en el punto isoelectrico; sin embargo tal alteración también modifica la solubilidad por debajo de un pH de 6.0 y por lo tanto su actividad emulsificante.

La segunda modificación consiste en efectuar una hidrólisis con pepsina a una temperatura de 37°C durante 30 minutos, con una concentración de enzima de 1.0 mg / g proteína. Debido a que la hidrólisis enzimática varía con el tipo de proteína sustrato, la hidrólisis de la globina sólo mejora la actividad emulsificante parcialmente.²⁹

Tal actividad emulsificante puede ser mejorada con la adición de carboxi metilcelulosa y además se presenta un efecto de estabilización de la emulsión, lo cual se logra también en emulsiones a base de ovealbúmina y de serealbúmina bovina.

4.4 Propiedades Espumantes

Las propiedades espumantes de la globina han sido estudiadas desde hace largo tiempo^{45,51} y al ser comparadas con otras proteínas como albúmina de huevo y aislados de plasma, éstas resultan excelentes.

El máximo volumen de espuma se obtiene a una concentración de 1.7 g de proteína por 100 ml de agua, presentando un valor de 190 ml aproximadamente. Al variar el pH la capacidad espumante de la globina es mayor que la de las proteínas del plasma, aunque mientras la respuesta del plasma es lineal, la globina muestra un máximo volumen a un pH de 6.0 con un mínimo a 7.2.^{51,52}

El volumen de espuma decrece con el tiempo, sin embargo en un período de 10.0 minutos después de la formación de la espuma, la mejor estabilidad en cuanto a pérdida de volumen con respecto al tiempo la tiene el aislado de globina.

A continuación se presenta la tabla II reportada por Tyber et al, en la cual se observan los volúmenes de espuma para la albúmina de huevo y aislados de globina a distintos intervalos de tiempo.⁵²

Muestra	0 min volumen (ml)	2.0 min	5.0 min	10.0 min	% V
Globina pH 2.5	185	174	169	165	12.0
Globina pH 6.0	198	188	183	182	8.0
Globina pH 7.2	146	135	120	118	19.0
Ovealbúmina sin diluir	108	106	104	101	6.5
Ovealbúmina diluida	121	106	101	100	17.0

Tabla II. Capacidad espumante y estabilidad de espuma de Globina comparada con Ovealbúmina.

De los resultados se infiere que la globina es un adecuado agente espumante, e incluso mejor que las proteínas de huevo (ovealbúmina).

4.5 Propiedades de Formación de Geles

Las soluciones de globina al ser llevadas a temperaturas iguales o superiores a los 80°C presentan cambios notables de viscosidad; sin embargo tales cambios sólo ocurren en un estrecho margen de pH que va de 5.0 a 6.0. La consistencia del gel, depende además de la concentración de proteína, requiriéndose concentraciones mayores del 3.0% para lograr cambios de viscosidad apreciables.

La concentración óptima de proteína para la formación de geles es de alrededor de un 5.0 % y mientras mayor es el calentamiento y el tiempo de exposición, la viscosidad aumenta. En una solución al 5.0 % de proteína sometida a diferentes calentamientos (85, 90 y 95°C) se observa que la mayor viscosidad se obtiene a un pH de 5.6; con un calentamiento de 95°C durante un período de 30 minutos forma una pasta semisólida, éste es, un gel. Resulta interesante señalar que independientemente del calentamiento, a pH menores e mayores del rango de 5.0 a 6.0 no existen cambios apreciables de viscosidad.

En la gráfica de la figura 20 tenemos la viscosidad contra el cambio del pH en soluciones de globina para distintas temperaturas.⁴

La presencia de sales como el cloruro de sodio inhiben el efecto de viscosidad, incluso empleadas a concentraciones tan bajas como 0.2 M así una solución de cloruro de sodio con ésta concentración, adicionada a una dispersión de globina y mantenida a un pH por encima de 5.0 hace que la viscosidad disminuya en alrededor de un 30.0 %, lo cual indica que las interacciones proteína - proteína se hacen más importantes que aquellas proteína - agua, lo cual previene el incremento de viscosidad y la gelificación.

Al igual que otras propiedades funcionales, la gelificación de la globina depende en gran parte de su solubilidad, pues recordemos que éste proceso se debe a una multiplicación de interacciones entre grupos amina y grupos carboxilo libres que resulta en la formación de una compleja red tridimensional.³⁶

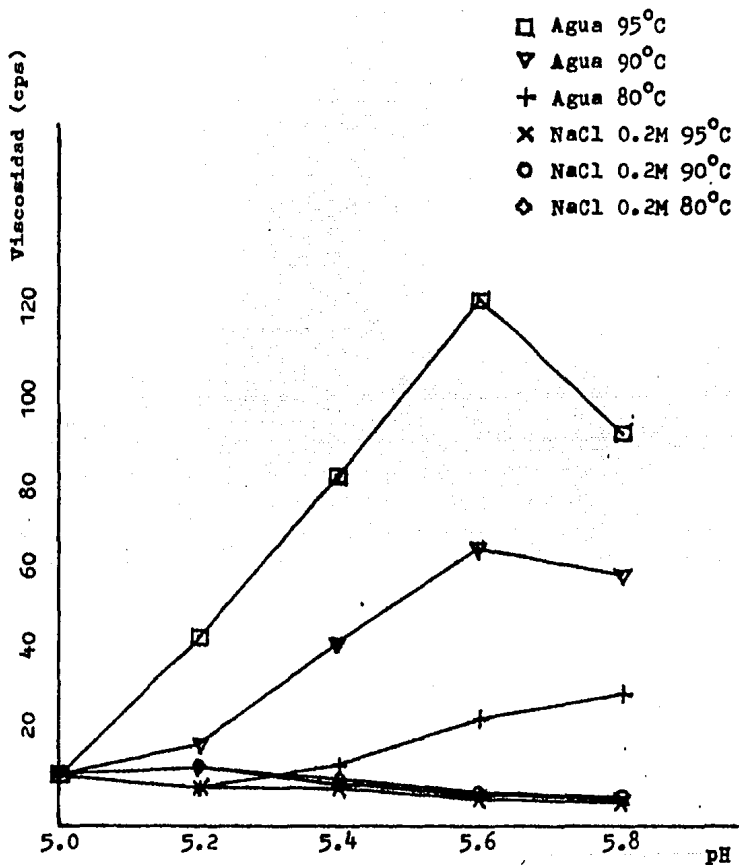


Fig 20. Viscosidad de Suspensiones de Globulina al 5.0% llevadas a 80, 90 y 95°C por 30 minutos, como función de pH.

5. Aplicaciones en Alimentos

5.1 Historia

El empleo de sangre animal en productos de consumo humano es común para diferentes culturas; aunque para otras como los países latinoamericanos no ha sido muy difundida. En algunos países europeos se elaboran productos a base de sangre, sobretodo embutidos.⁸ En Africa, la sangre es consumida fresca por algunas tribus que la beben directamente después de sacrificado el animal.⁵⁴

Durante la Primera Guerra Mundial, debido a las carencias de alimentos se sugirió mediante estudios hechos por Kobert (1915) que se añadiera un mínimo de 10.0% de sangre a los alimentos, posteriormente a ésta investigación se añadió otra en la que se proponía refrigerar la sangre con lo cual se separaba el suero y luego se le agregaba peróxido de hidrógeno con el objeto de eliminar el color obscuro.⁵

Más recientemente, durante la Segunda Guerra Mundial también en Alemania se empleó plasma secado por aspersión como sustituto de albúmina de huevo en varios productos alimenticios consumidos en el frente de batalla.^{5,40,50}

En Europa, históricamente hablando, la sangre entera se ha utilizado en cárnicos procesados como el llamado "pudín de sangre" o en el "guisado de sangre y lengua", a niveles del 4.0 al 7.0 %; donde su principal función es actuar como material colorante, de donde le viene el nombre a éstos productos.^{40,50,51}

En 1960 aparece una patente de Sair⁴⁰ describiendo un procedimiento para separar la sangre entera en dos fracciones; un pigmento estabilizado de globina y otra fracción no pigmentada. La fracción pigmentada es conocida con el nombre comercial de Myglo^R y ha sido ampliamente utilizada en los Estados Unidos como colorante en ciertas formulaciones de embutidos domésticos.⁵⁰

A finales de 1930 la compañía alemana Benckiser & Co. experimentó con el uso de varios compuestos a base de fosfatos utilizados como anti coagulantes en la recolección y separación de sangre entera e industrializó la manufactura de dos productos a base de plasma conocidos bajo los nombres comerciales de Fibrisol^R y Plasmol^R empleados para reforzar las capacidades emulsificantes en embutidos; fueron comercializados exi-

tosamente en varios países de Europa y en los Estados Unidos.⁵⁰

Finalmente el Programa Canadiense de inspección cárnica permite el uso de sangre entera fresca o plasma de res en salchichas para cubrir los requerimientos de un 11.0% de proteína total.

5.2 Formulación de Pastas

Algunos trabajos¹⁷ se han encaminado a la sustitución de huevo en formulaciones de pastas para sopa, empleando en vez de éste bien sea plasma de res o de cerdo; probados en porcentajes progresivos del 2.0 al 8.0 % hasta llegar a un punto en el que se presentan dificultades apreciables en el amasado. El máximo porcentaje de plasma que es posible añadir es de un 10.0%, pues a mayores porcentajes las propiedades reológicas se ven sensiblemente afectadas dificultándose la mezcla de ingredientes, debido también en parte a la gran capacidad ligante de agua que presentan las proteínas del plasma.

En el desarrollo de éstas formulaciones las mezclas fueron amasadas durante tres minutos, efectuándose después un laminado y prensado con una fuerza de 800 a 1140 lb / in²; por último se secó a una temperatura de 40°C durante 18.0 horas para obtener un producto con un 11.0 a 12.0% de humedad.

Desde el punto de vista nutricional, se realizaron algunas pruebas de REP obteniéndose los siguientes resultados:

Sémola	REP	=	0.97
Sémola-Plasma de Res	REP	=	2.74
Sémola-Plasma de Cerdo	REP	=	2.57

En las mezclas sémola-plasma, los aminoácidos limitantes son primeramente el triptofano, seguido de metionina. Al agregar hasta 6.0 g de plasma de res o de cerdo a 100 g de sémola, se incrementan las proteínas de ésta en porcentajes de 12.86 y 13.02 % respectivamente, partiendo de una base de 9.8 % de proteína.¹⁷ Por otro lado se observa un aumento en la proporción de los aminoácidos esenciales con respecto al patrón de la sémola, existiendo un mayor balance entre ellos.

5.3 Productos de Panadería

Se han estudiado las posibles aplicaciones de la sangre entera y de las proteínas del plasma en panadería; simultáneamente se ha evaluado el posible sinergismo entre las proteínas de la sangre y el suero de queso ambos subproductos industriales⁵.

5.3.1 Empleo de Aislados Proteínicos de Plasma

En formulaciones para masa de pan, las proteínas del plasma actúan como emulsificantes. Al evaluar diversas formulaciones con porcentajes de plasma del 0 al 10.0 % se observa una ligera reducción en la absorción del farinógrafo al incrementar el nivel de plasma, al mismo tiempo la estabilidad de la masa aumenta con el nivel del aislado proteínico.

El volumen de la hogaza fermentada con 2.0, 4.0 y 6.0 % de plasma de mostró ser significativamente mayor que un control elaborado con un 100% de harina de trigo (como se observa en la tabla III) lo cual puede deberse a la dilución parcial del gluten fuerte de la harina de trigo; sin embargo se ha demostrado que los aislados proteínicos de algodón siempre producen panes con mejores características de panificación que controles en los que sólo se ha empleado harina de trigo. El volumen de las hogazas se reduce al emplear niveles de plasma tan altos como el 8.0 ó 10.0 por ciento, aunque al analizar los resultados, las desviaciones estándar de los volúmenes indican que no hay diferencia significativa entre las propiedades de los panes preparados con las distintas formulaciones (ver tabla III).^{5,20}

Desde el punto de vista sensorial, a menores concentraciones, éste es 1.0 - 2.0 % de aislado de plasma, no se presentan ni sabores ni aromas indeseables, pero al emplear porcentajes del 4.0 % en adelante se empiezan a percibir aromas desagradables al permanecer caliente el pan; mismos que desaparecen al enfriarse.

Cuando se sustituye el 50.0 % del huevo total de la formulación con plasma, se presenta una reducción considerable en el volumen; al formular panes e pasteles con un 100.0 % de aislado de plasma, se presenta un mal aroma y sabor, lo mismo para el color y textura, de donde se concluye que no es conveniente reemplazar más del 30.0 % del huevo con plasma.²⁰

5.3.2 Sinergismo entre Sangre y Suero de Queso en Formulaciones de Harinas para Panificación.

En general se puede decir que los panes elaborados con sangre o mez

Aislado de Plasma (%)	Volumen (cc)	Volumen Especifico (vol/peso)	Emulsificante Estearoil-2-Lactilato de Sodio (%)
0	3220	6.7	0.5
2	3425	7.2	0.5
4	3390	6.8	0.5
6	3380	7.1	0.5
8	3130	6.3	0.5
10	3010	6.0	0.5
0	3313	6.9	0.0
2	3450	7.1	0.0
4	3125	6.4	0.0
6	2900	6.0	0.0
8	2813	5.8	0.0
10	2775	5.8	0.0

Tabla III Volumen y Volumen Especifico del Pan elaborado con un aislado de plasma en diferentes proporciones, y efecto de la adición de estearoil-2-lactilato de sodio como emulsificante.

clases de sangre y suero de queso presentan un menor volumen y una textura de miga muy diferentes a aquellas que presenta un control.

Durante el mezclado de la masa es necesario incrementar la cantidad de grasa en las formulaciones que contienen sangre, pues de otro modo la masa es difícil de mezclar a mano.

Desde el punto de vista sensorial la aceptación de los panes elaborados con sangre y suero de queso es tan buena como para un pan normal pero al aumentar gradualmente la proporción de sangre en las mezclas el color se va oscureciendo y además cuando los panes se mantienen aún calientes se percibe un ligero aroma a hígado que resulta muy desagradable.

En lo que se refiere al aspecto nutricional los mejores valores de REP los tenemos para las mezclas sangre - suero de queso de 3 : 1 y 1 : 1 cuyos resultados son respectivamente 1.85 y 1.82.

La adición de sangre no refinada al pan es un tanto impráctica debido al factor sensorial, sin embargo los derivados de la sangre sin coagular y modificados mediante algún proceso pueden ser de utilidad; el empleo de suero de queso resulta benéfico sobre todo como sustituto de agua en el proceso.

5.4 Productos Cárnicos

5.4.1 Embutidos

Tanto los aislados de plasma como los de globina han sido utilizados en productos como salchichas;⁸ en donde la interacción entre las proteínas del plasma y de la carne presentan mayor capacidad emulsificante que las mezclas con globina; mientras que las mezclas plasma-globina brindan valores situados entre aquellos obtenidos para cada proteína individualmente.^{8,13,40,50}

La capacidad emulsificante de las proteínas solubles de la carne y de las proteínas del plasma resultan similares por debajo de una concentración del 0.4 %, pero por encima de éste valor las proteínas de la carne parecen mantener una alta capacidad emulsificante, en tanto que para el plasma disminuye gradualmente. En lo referente a las mezclas globina plasma, el comportamiento a concentraciones inferiores al 0.4 % no difiere mucho de los resultados obtenidos para el plasma solo.

A continuación se muestran las proporciones de carne: plasma: globi-
na evaluadas por Caldireni et al.⁸

Carne	:	Plasma	:	Glebina
80	:	10	:	10
60	:	20	:	20
80	:	20	:	00
80	:	00	:	20

En general las mezclas presentan valores de capacidad emulsifican-
te similares o mayores que la carne en bajas concentraciones (0.4 %) sin
embargo los valores de capacidad emulsificante para todas las mezclas son
mayores que aquellos obtenidos para la carne a concentraciones mayores
del 0.6 %.

De todo lo anterior se puede inferir que el comportamiento de las e-
mulsiones preparadas con mezclas de carne, plasma y globina puede ser
modificado mediante el conveniente uso de proporciones distintas de di-
chas proteínas, considerando siempre que la capacidad emulsificante es de-
pendiente de la cantidad de cada una de ellas. Si la grasa presente
en la carne empleada en dichas mezclas es considerada, resulta interesan-
te hacer notar que la capacidad emulsificante decrece mientras el conteni-
do de grasa disminuye; pero el contenido de grasa es menos significativo
en cuanto a su efecto sobre la capacidad emulsificante que la cantidad to-
tal de proteína en solución.

La capacidad emulsificante también depende del tipo de carne que se
utilice; pues ciertas carnes contienen mayores porcentajes de grasa, atri-
buyéndose tal observación al hecho de que la proteína se presenta mejor
distribuida y por lo tanto es más fácilmente solubilizada. Este se de-
muestra en los estudios efectuados por Satterlee et al,³⁹ que evaluando
diferentes tejidos en polvo (deshidratados) demostró que las más bajas ca-
pacidades emulsificantes se obtienen en tejidos con un bajo porcentaje de
grasa; por otro lado también encontró que los tejidos cuyas proteínas so-
lubles poseían la mayor capacidad emulsificante producían emulsiones con
mayor tamaño de partícula; éste es, que en tejidos con mayores porcenta-
jes de grasa, la interacción proteína - proteína es mayor que en tejidos
con poca grasa, en los cuales las proteínas se encontrarían " sueltas "
en cuyo caso habría más proteína disponible para formar glóbulos de grasa

logrando su emulsificación.

Se puede decir que la mejor proporción de plasma y globina para mezclar con carne y obtener una emulsión es de alrededor del 20.0 % por otro lado, desde el punto de vista sensorial, las mezclas son aceptables en cuanto al sabor, textura, aroma y color.

5.4.2 Formulaciones con Carne Molida o Picada

La carne picada o molida frecuentemente es reforzada con proteínas de soya, puesto que ésta mezcla ofrece ciertas ventajas. Suter et al en 1976⁴⁷ estudiaron la adición de extensores para carne empleando plasma al 1.0 % con lo que lograron el mejoramiento de las propiedades cohesivas de la carne. Las principales ventajas que ofrece la adición de proteínas a la carne son:

- a) Extensión de la proteína disponible.
- b) Las cualidades nutritivas del producto son mejoradas.
- c) Las propiedades funcionales mejoran sensiblemente.
- d) Se pueden obtener reducciones de costos en beneficio del consumidor.

El empleo de proteínas de soya texturizada junto con un 1.0 % de aislados de plasma hacen decrecer la pérdida de humedad durante el cocimiento o frío de formulaciones con carne molida; mientras que aceleran la pérdida de grasa. 13,40,50

5.5 Productos Diversos

La profunda evaluación de algunas propiedades funcionales de las proteínas de la sangre ha hecho que su aplicación se haya extendido a diversos productos. Shahidi et al⁴¹ estudiaron la posibilidad de utilizar la globina como emulsificante en formulaciones tipo mayonesa obteniéndose resultados interesantes (Cap 4; 4.4).

Por otro lado, de acuerdo al patrón de aminoácidos esenciales del plasma, se puede suplementar con los del maíz, lo cual hace posible su uso en formulaciones de tortilla¹¹ aumentando el valor nutritivo de éstas; sin embargo a continuación se discutirán los aspectos nutricionales que giran en torno a las proteínas de la sangre.

5.6 Aspectos Nutricionales

En 1973 Young et al⁵⁶ demostraron que las proteínas del plasma secadas por aspersión presentaban un valor de REP mayor al de un patrón

de caseína; en sus estudios la caseína presentó una REP de 1.94 mientras que las proteínas del plasma de 2.15. Por otro lado la globina muestra una REP negativa de 1.05, debido a una gran deficiencia del aminoácido esencial isoleucina; como se aprecia en la tabla IV.

El contenido de metionina tanto en el plasma como en la globina es muy bajo pero la lisina es abundante, y éste aminoácido es precisamente el limitante en los cereales. Algunas investigaciones^{40,52} refieren la adición de un 1.20 % de isoleucina a la dieta haciendo con ello que el valor de REP se incrementa de -1.05 a 2.88, tomando como patrón a la caseína con 2.5. Las ratas alimentadas con dietas a base de globina pierden peso, empiezan a perder pelo y mueren en un término de cinco días. Cuando son utilizadas las proteínas del plasma o bien la globina en dietas con caseína se está efectuando una suplementación.

El contenido de aminoácidos esenciales en caseína y sangre, en proporciones del 53.0 y 47.0 % respectivamente ofrece un patrón adecuado. En la tabla IV se comparan los contenidos de aminoácidos de ambos lados de plasma y globina, además de carne de bovino (en base seca), los aminoácidos limitantes para ésta última son el triptófano y la metionina.

Desde este punto de vista, el patrón de aminoácidos es satisfactorio y se pueden preparar emulsiones a base de sangre para reemplazar a la carne picada en embutidos, por ejemplo sin alterar la calidad nutricional del producto final, pudiéndose usar en lugar de tendones u otras partes con alto contenido de colágeno y son normalmente parte de las formulaciones.

La Importancia del Hierro

Los productos animales y especialmente las carnes son la más importante fuente de hierro en la dieta. Cuando se dan como parte de la alimentación, el hierro del grupo hemo, es con mucho más fácilmente disponible para su absorción que cuando es suministrado en forma de sales ferrosas. Este punto resulta muy interesante pues la anemia ferropénica ha sido identificada como un problema grave en los últimos tiempos sobre todo en niños; de aquí la gran importancia de la incorporación de la sangre a diversas formulaciones alimenticias.

Tabla IV Composición de aminoácidos tanto en globina como de plasma reportados en diferentes estudios.

Aminoácidos	Globina (Tyber et al) g/100 g proteína	Globina (Shahidi et al)	Plasma	Carne Res Base seca (Bovina)
Esenciales				
Lisina	10.5	10.5	9.2	4.0
Treonina	3.8	5.6	6.3	2.0
Metionina	1.7	2.0	1.0	1.2
Valina	9.4	13.0	7.0	5.0
Fenilalanina	7.9	9.4	5.6	2.0
Leucina	13.8	13.4	10.1	3.6
Isoleucina	0.2	0.3	2.9	2.2
Triptofano	2.0	-	1.9	0.5
Histidina	7.8	8.9	3.5	2.8
No Esenciales				
Arginina	3.6	-	5.0	2.2
Acido Aspártico	10.0	-	10.7	2.6
Serina	3.0	-	5.5	1.8
Acido Glutámico	6.8	-	13.7	4.0
Prolina	3.5	-	3.8	2.2
Glicina	3.7	-	3.6	6.9
Alanina	8.6	-	5.3	1.5
Cisteína	0.1	-	1.2	0.5
Tirosina	2.5	-	3.6	1.6

6. Emulsiones

6.1 Generalidades

El término "emulsión" ha recibido a través del tiempo muchas definiciones, pero la más universal es aquella que dice: "una emulsión es la dispersión de dos líquidos llamados fases, uno de los cuales forma la parte continua del sistema". Las emulsiones tienen una gran importancia práctica, tanto que la I. U. P. A. C. ha dado su propia definición: "en una emulsión, gotitas de líquido o cristales líquidos se encuentran dispersos en otro líquido". 13,43

Una emulsión de dos líquidos sin un estabilizador, rápidamente se separa en dos capas distintas, de modo que para poder obtener una emulsión estable deben añadirse sustancias que posean propiedades que actúen sobre la interfase formando una barrera energética que evite un contacto directo entre las gotículas emulsificadas.¹³

6.2 Las Proteínas como Emulsificantes

Las proteínas forman un grupo muy particular de emulsificantes y cuyo estudio hace algún tiempo se trataba como el de moléculas bidimensionales en la interfase de los líquidos, sin embargo esto era válido sólo para sistemas con concentraciones de proteína muy bajas; en sistemas con altas concentraciones de proteína se debe pensar en un arreglo tridimensional con una configuración estérica e interacciones de gran importancia.

Las particulares características de las proteínas en lo que se refiere a sus propiedades hidrofílicas y lipofílicas hace que las moléculas se dispongan en la interfase de los líquidos emulsionados brindando estabilidad y evitando la ruptura de la emulsión como se verá más adelante. El concepto de HLB nos brinda cierta información sobre la solubilidad del emulsificante y puede usarse como guía del tipo de emulsión que se va a formar.

Las proteínas al actuar como emulsificantes forman una gruesa capa o envoltura alrededor de la superficie de la partícula emulsificada lo cual acarrea una serie de fenómenos energéticos que facilitarán la formación de la emulsión y su estabilidad dependerá de factores como: la

viscosidad de la fase continua, la carga eléctrica, la adsorción de partículas sólidas a la superficie de la fase emulsificada y también de la formación de una monocapa o capa multimolecular en la interfase.

6.3 Mecanismo de Acción de Polímeros Proteínicos

La estabilización de emulsiones mediante polímeros proteínicos es de vasta importancia en todos los sectores de la tecnología de alimentos en donde encontramos emulsiones.

a) Adsorción y Conformación del Polímero

La adsorción de un surfactante en la interfase aceite-agua produce una disminución de la energía interfacial con lo cual se facilita el desarrollo de la emulsión y favorece la estabilidad de las grandes áreas interfaciales asociadas a las emulsiones.¹³ Por sí solo éste no es el mecanismo estabilizante pues otras sustancias tales como gomas y sólidos muy pulverizados pueden ejercer tal efecto.

La adsorción del polímero en la interfase sólido-líquido o líquido-líquido se lleva a cabo en diversas formas; sea como anillo, cola o cadena, tal como se muestra en la figura 21 :

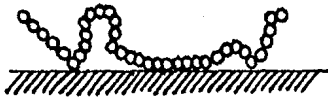


Fig 21. Adsorción de polímeros proteínicos en la interfase de la emulsión.

La cantidad de polímero adsorbido y su distribución en las cercanías de la superficie dependen de su composición y existen varias relaciones matemáticas que describen su distribución.

b) Formación de una película interfacial mecánicamente fuerte.

La floculación generada por polímeros es un proceso bien conocido. La estabilidad de las emulsiones que contienen proteína como estabilizante proviene de la protección mecánica que les dan las películas adsorbidas alrededor de las gotículas, más que de la reducción de la tensión interfacial. Las sustancias en forma de sólidos muy finos tienen ángulos de contacto de entre 0 y 180° y tienden a acumularse en la interfase aceite-agua, con lo que se da estabilidad a la emulsión.⁴³

La coalescencia implica la floculación de gotículas seguida de una exclusión de la sustancia de la película protectora de la región de contacto entre gotículas y éste último es más fácil con una película dis-

tribuida homogéneamente que con uno o varios paquetes compactos aislados.

6.4 Mayonesas y Aderezos

Dentro de las emulsiones que podemos encontrar en los alimentos una de las más importantes son las mayonesas y los aderezos. Estas emulsiones reúnen una serie de características que las hace sistemas extraordinariamente complicados y cuya estabilidad se favorece por factores como los que ya hemos señalado.¹³

La definición mundial para mayonesa dice que es una salsa condimentada obtenida por la emulsificación de aceites vegetales comestibles o grasas comestibles de origen vegetal en una fase acuosa consistente en vinagre o una solución de algún ácido usado en alimentos, produciéndose la emulsión con el empleo de yema de huevo de gallina.³¹

En México los aderezos son conocidos con el nombre oficial de "aderezo con mayonesa" y se definen como el producto alimenticio elaborado con no menos del 50 % de mayonesa o de la cantidad correspondiente de aceites vegetales comestibles y de yema de huevo líquida o su equivalente en cualquiera de sus formas, pudiendo estar agregado de otros ingredientes opcionales y aditivos autorizados. El contenido de aceite vegetal comestible no será menor del 33.0 % en peso mientras que el de yema de huevo líquido será de 4.0 % o su equivalente en yema de huevo deshidratada o la equivalencia en huevo entero sea líquida o deshidratada.

En la elaboración de aderezos pueden emplearse una serie de ingredientes opcionales:³¹

- a) Sazonadores como sal yodatada, especias y condimentos o sus extractos o aceites esenciales con las excepciones del azafrán y cúrcuma.
- b) Edulcorantes Nutritivos como la sacarosa, dextrosa, jarabe de maíz jarabe de glucosa y miel de abeja.

En lo que se refiera a los aditivos que se permiten en la elaboración de aderezos tenemos:

- a) Colorantes sólo B-caroteno natural o sintético. (2mg/kg)
- b) Emulsificantes como: goma arábiga, goma guar, goma karaya, goma de tragacanto, pectinas pudiéndose emplear mezclas.
- c) Potenciadores de sabor como glutamato monosódico. (0.2% máximo)
- d) Agentes quelantes como El EDTA. (75 mg/kg producto)
- e) Grasas comestibles como la oxiestearina (0.125% máximo).

Los ingredientes básicos son: Mayonesa y/o aceites vegetales comestibles, yema de huevo líquida o deshidratada o huevo entero líquido o deshidratado, vinagre y/o jugo de limón y pasta cocida o parcialmente cocida preparada con almidón de maíz y/o de tapioca y/o de trigo y/o de arroz.

P A R T E

E X P E R I M E N T A L

Secuencia de Trabajo

El desarrollo experimental fué dividido en tres fases, consistiendo de cada una de ellas en:

Fase I

Recolección de la sangre en el rastro, adición del anticoagulante y centrifugación con el objeto de separar plasma y paquete globular. Selección del método apropiado para obtener la globina del paquete globular, optimización del método elegido; obtención de un pequeño lote suficiente para las siguientes fases del estudio.

Fase II

Caracterización funcional del aislado obtenido, evaluando las propiedades emulsificantes, espumantes, la solubilidad, la capacidad de absorción de grasa, la capacidad amortiguadora y el tamaño de partícula en emulsiones.

El análisis bromatológico, en lo que se refiere a proteína, volátiles, cenizas, grasa, ácido ascórbico residual y hierro residual.

Fase III

Fermulación de un aderezo, con refermulaciones hasta obtener un producto con características sensoriales adecuadas en lo referente a textura principalmente, evaluando finalmente la estabilidad del producto obtenido.

MATERIALES Y METODOS

FASE I

Recolección de la Materia Prima

La sangre fué recolectada en el Rastro de Topilejo D.F., directamente de una incisión practicada en la arteria aorta y se recibió en un recipiente de plástico debidamente lavado, tratado además con una solución de metabisulfito de sodio que actúa como bactericida. Para prevenir la coagulación se empleó citrato de sodio en solución al 10.0% y añadiendo 100 ml por litro de sangre. El recipiente está provisto de un tapón con cierre hermético.

Centrifugación

De acuerdo a las recomendaciones bibliográficas se empleó una descremadora manual para llevar a cabo la centrifugación; misma que se verificó en el Laboratorio 202 de la División de Estudios Profesionales de la Facultad de Química. El tiempo transcurrido entre la recolección y la centrifugación fué de tres horas. Posteriormente ambas fracciones se almacenaron a una temperatura de -10°C . Todas las operaciones se realizaron en el menor tiempo posible para limitar el posible crecimiento bacteriano en las fracciones obtenidas.

Plasma

Debido a que ésta fracción no es objeto de la presente investigación, tan sólo fué concentrada a vacío a una temperatura de 60°C , con una presión absoluta de 20-30 mm Hg durante 5 horas, y la pasta obtenida se almacenó a una temperatura de -10°C .

Paquete Globular

Dentro de los métodos recomendados^{51,52} para la eliminación del grupo hemo, el de Tybor et al es el más conveniente por la facilidad para abastecerse de las materias primas y reactivos necesarios. Este método se presenta en el capítulo II y sólo serán señaladas las modificaciones introducidas al mismo para su optimización.

a) Una vez obtenido el paquete globular debe procederse a efectuar la hemólisis para liberar la proteína de los glóbulos rojos. Tybor et al señalan una dilución 1:1; sin embargo numerosas investigaciones recomiendan la adición de un mínimo del 200 % y como máximo 300%.

En este caso se empleó la primera opción (200%). La adición del agua debe hacerse con agitación continua, durante al menos cinco minutos.

b) A la fase acuosa recuperada después de la adición y eliminación de cloroformo, se añade ácido ascórbico en una relación de 2 g de ácido ascórbico por cada 12 g de proteína (verificando por Kjeldahl). El ácido ascórbico empleado es el isómero L por su mayor solubilidad en solventes orgánicos.

c) Durante la precipitación de la globina con acetona, es necesario acidificar con ácido clorhídrico 0.1N hasta un pH de 2.5 y 3.0; esto es ligeramente más ácido de lo recomendado por Tybor et al, pero el pH es un punto crítico del proceso y la remoción del grupo hemo se facilita a éste pH.

d) La relación de volúmenes es muy importante, se evaluaron tres relaciones acetona: paquete globular, 4:1; 3:1 y 2.5:1, para observar el efecto en la eliminación del color.

e) Una vez precipitada la globina, se filtró a través de papel filtro de poro abierto, lavando repetidas veces con acetona acidificada y posteriormente con acetona no acidificada, para arrastrar residuos de ácido clorhídrico. El precipitado obtenido es secado a vacío bajo las siguientes condiciones: a una temperatura de 50°C, presión absoluta de 20-30 mm Hg durante 8 horas.

f) El secado por aspersión practicado en el método de Tybor et al y en muchos otros no se verificó, con el objetivo de proteger al máximo las propiedades funcionales de la globina, parte medular del presente trabajo, por lo que una vez verificado el método y con la obtención de un pequeño lote de globina, para el cual a continuación se detallan los cálculos, se procedió con la siguiente fase del desarrollo experimental.

Cálculos para la Obtención de Globina a partir de 100 ml de paquete globular.

a) Hemólisis:

100 ml de paquete globular + 200 ml de agua destilada

b) Adición de cloroformo:

cloroformo	solución de hemoglobina
1.0 ml	4.0 ml
75.0 ml	300.0 ml

c) Adición de ácido L-ascórbico

Partiendo de la determinación de proteína en el paquete globular (por Kjeldahl) que es de 35.0%

Acido Ascórbico	Proteína
2.0 g	12.0 g
5.8 g	35.0 g

d) Precipitación con Acetona Acidificada

Acetona	Solución de Hemoglobina
4.0 ml	1.0 ml
1200.0 ml	300.0 ml

FASE II

La evaluación de las propiedades funcionales del aislado obtenido se realizó mediante cada uno de los métodos que a continuación se describen.:

Solubilidad

Para evaluar la solubilidad de la globina en función del pH, se empleó el método de precipitación de proteínas solubles con ácido tricloroacético.¹

El método se fundamenta en la precipitación de las proteínas solubles con una solución al 10.0% de ácido tricloroacético, cuantificando la turbidez producida a 400 nm; comparando bien sea contra un estándar de concentración conocida o bien asignando un valor de 100 % a la solución que presenta la mayor solubilidad.

Método

- Se preparan dispersiones de la proteína, pesando 10 mg de la misma y disolviendo en agua destilada, a la cual se le ha ajustado el pH con soluciones bien sea de HCl o de NaOH al 10.0%.
- Una vez preparadas las soluciones se dejan reposar durante cinco minutos, y transcurrido éste lapso se toma 1.0 ml del líquido sobremadante transfiriéndolo a tubos de ensayo debidamente marcados.
- A cada tubo se agregan 4.0 ml de solución de ácido tricloroacético al 10.0%, se agitan cuidadosamente y se dejan reposar tres minutos.
- Transcurrido este tiempo se llevan a un espectrofotómetro y se leen a 400 nm. (turbidez producida) Comparándose contra una referencia de caseinato de sodio que en agua a pH de 7.0 presenta un 100% de solubilidad.

Capacidad de Absorción de Grasa

El método se fundamenta en las propiedades de las proteínas de absorber varias veces su peso en grasa, los resultados se expresan como peso de aceite absorbido por gramo de proteína.^{23,26,27,28}

Método

- a) Se pesa una muestra de exactamente 1.0 g de la proteína en una balanza analítica y se mezcla con 10.0 g de aceite de maíz.
- b) Para facilitar el mezclado se emplea un agitador vibratorio, agitando la muestra durante 30 segundos.
- c) Las muestras se dejan reposar por 15 minutos.
- d) Transcurrido este lapso se centrifugan por cinco minutos a unas 5000 x g.
- e) Finalmente el aceite sobrenadante se decanta y se pesa.

Propiedades Espumantes

Para la evaluación de las propiedades espumantes se recurrió al método de Lawhon et al, con algunas variaciones.²³ Como estándar de comparación se usó albúmina de huevo.

Método

- a) Se prepara una dispersión al 2.0% de la proteína en 50 ml de agua destilada y se ajusta el pH con HCl o NaOH al 10.0%.
- b) La dispersión se transfiere al tazón de una batidora, mezclando a máxima velocidad (aproximadamente 10000 rpm) durante exactamente dos minutos.
- c) Transcurrido este lapso se trasvasa la espuma obtenida a una probeta de 250 ó 500 ml (dependiendo del volumen obtenido) no dejando transcurrir mucho tiempo en ésta operación.
- d) Se mide el volumen a los 0, 1, 5, 10, 20, 40, 60 y 100 minutos después de terminado el batido.
- e) La estabilidad de espuma se calcula gracias a la ecuación del % de variación de volumen (Capítulo 3; 3.5).³⁶

$$\% \text{ Variación de Volumen} = \frac{(V_0 - V_f) \cdot 100}{V_0}$$

Propiedades Emulsificantes Mediante la Prueba de "Quick Test"

Este método permite evaluar las propiedades emulsificantes de las proteínas, comparándolas contra un estándar conocido, en este caso ya ma de huevo.³⁰

Para evaluar las propiedades emulsificantes se obtienen curvas reológicas de las diferentes emulsiones preparadas; en ellas se grafica la viscosidad contra la velocidad de giro de un viscosímetro Brookfield.

Las emulsiones empleadas deben prepararse siguiendo una fórmula base:

Aceite de Maíz	=	70.0 %
Agua	=	27.5 %
Yema de Huevo	=	2.5 %

Las diferentes formulaciones evaluadas se presentan en la tabla V

Método

- Se mezclan la yema de huevo (o glibina) y el agua en un batider " Waring " o bien en una batidora " Osterizer " a baja velocidad, aproximadamente 8000 - 10000 r.p.m.
- Se continúa el mezclado a una velocidad más alta (12000-15000 r.p.m.)
- Se agrega el aceite a una tasa constante de adición, durante aproximadamente un minuto.
- Se homogeniza bien, limpiando las paredes del tazón de la batidora.
- Se continúa mezclando durante unos 30 segundos más.
- Se determina la viscosidad de la emulsión formada con la ayuda de un viscosímetro Brookfield, variando la velocidad desde 0.5 hasta 100.0 r.p.m. empleando ruta helicoidal y aguja T.

Propiedades Amortiguadoras

Para evaluar las propiedades como amortiguador de una proteína es conveniente emplear el método descrito por Merr et al,²⁸ el cual se fundamenta en la capacidad de las proteínas de actuar como anfóteros, permitiendo la adición de grandes cantidades de iones H^+ o bien OH^- sin presentarse grandes variaciones de pH.

Método

- Se prepara una dispersión de la proteína en agua destilada y desionizada a una concentración del 0.5 %.
- Con la ayuda de un potenciómetro se determina el pH de la dispersión.
- Se titulan alícuotas con hidróxido de sodio 0.1 N, este es hacia la

pH = 2.5						
	A	B	C	D	E	F
Aceite de Maiz	70.0%	70.0%	70.0%	70.0%	70.0%	70.0%
Agua	29.6%	29.5%	29.4%	27.5%	27.0%	24.0%
Yema de Huevo*	-	-	-	2.5%	3.0%	6.0%
Globina	0.4%	0.5%	0.6%	-	-	-
pH = 4.0			pH = 6.0			
	A	B	A	B		
Aceite de Maiz	70.0%	70.0%	70.0%	70.0%		
Agua	29.6%	24.0%	29.6%	24.0%		
Yema de Huevo*	-	6.0%	-	6.0%		
Globina	0.4%	-	0.4%	-		
* Tomando como base un porcentaje del 16.6% de proteina						

Tabla V Formulaciones de Emulsiones empleadas en la Obtención de Curvas Reológicas de Yema de Huevo y Globina, a Diferentes Valores de pH y Concentraciones de Proteína.

parte básica de la escala de pH, finalizándose la titulación al llegar a un pH predeterminado, anotándose el volumen gastado.

- d) A continuación se sigue el paso anterior exactamente igual con la sal vedad de emplear HCl 0.1 N, titulando ahora hacia la parte ácida de la escala, a pH previamente elegidos hasta llegar a un pH de 2.0.
- e) La capacidad amortiguadora de la proteína puede calcularse mediante la siguiente ecuación:

$$dB/dpH = \frac{\text{miliequiv. del titulante}}{\text{peso de la proteína} \times \text{pH}}$$

- f) Se compara la proteína problema contra algún estándar; en este caso contra yema de huevo y los resultados se grafican: dB/dpH contra pH.

Distribución del Tamaño de Partícula en Emulsiones Preparadas a Base de Globina.

El método permite evaluar las propiedades emulsificantes de una proteína, midiendo con la ayuda de un microscopio el diámetro de los glóbulos de aceite emulsificado, así como su distribución, para después representar los resultados en un histograma de frecuencias.³⁰

Mientras menor sea la dispersión de los tamaños de partícula, tendremos un indicio de que la emulsión es más estable; del mismo modo el tamaño de las partículas nos dirá sobre la estabilidad de la emulsión.

Método

- a) Se preparan emulsiones bajo las siguientes formulaciones:

	A	B
Aceite	70.0	70.0
de maíz		
Huevo	3.0	-
Globina	-	0.5
Agua	27.0	29.5
pH	2.0	2.0

- b) Se coloca una gota de la emulsión en un portaobjetos y sobre ella se pone un cubreobjetos.
- c) Se ajusta el campo con el objetivo micrométrico; posteriormente se realiza la medición del tamaño de partícula con el ocular micrométrico (10x)

y el objetivo 10 X.

- d) Se efectúa un conteo de las partículas en tres o cuatro campos hasta tener un mínimo de 200 lecturas.
- e) Se hace el tratamiento de los datos, agrupando en clases para poder representar las distribuciones en un histograma de frecuencias.

En lo que se refiere al análisis bromatológico del aislado obtenido se siguió bajo los métodos del A.O.A.C.¹ para cenizas, volátiles, proteína, grasa, ácido ascórbico y hierro.

FASE III

De acuerdo a los resultados obtenidos en la caracterización funcional y siguiendo las recomendaciones bibliográficas^{4,41} se aplicó el aislado de glibina en formulaciones de aderezos siguiendo la fórmula base que se detalla a continuación.

Fórmula Base para un Aderezo

Aceite de Maíz	55.00 %
Agua	18.40 %
Vinagre (10 % acidez)	8.00 %
Azúcar	2.00 %
Maltodextrina	2.00 %
Yema de Huevo	10.00 %
Sal	1.50 %
Mostaza	1.00 %
Almidón Fregelatinizado	1.00 %
Goma Xántica	0.50 %
Pimienta Negra	0.20 %
EDTA	0.10 %
Jugo de Limón	0.30 %

Los aderezos se preparan bajo el siguiente procedimiento:

Se pesan todos los sólidos y se mezclan empleando una batidora de mano con el 5.0 % del aceite total de la formulación, haciendo ésto a baja velocidad; a continuación se añade el emulsificante (glibina o yema de huevo), el agua, el vinagre y el jugo de limón para finalmente agregar el resto del aceite a una tasa constante de 5.0 ml / seg; mezclando a la velocidad máxima de la batidora durante 3 minutos.

La formulación base fué modificada hasta obtener un aderezo a base de globina con una textura tal que permitiera ser comparado con un patrón elaborado con yema de huevo como emulsificante. Tal formulación fué llevada a una prueba de evaluación sensorial. Se efectuó un perfil descriptivo - cuantitativo de textura, con la ayuda de un panel entrenado y familiarizado con los términos descriptivos de textura empleados, comparando contra un patrón formulado con yema de huevo.

Por último, la estabilidad de los aderezos se evaluó mediante una prueba de ruptura de la emulsión por congelación que consiste en colocar muestras de los aderezos a una temperatura de -10.0°C y observar la separación de fases a las 24 horas; la emulsión no debe romperse antes de transcurrir éste tiempo.

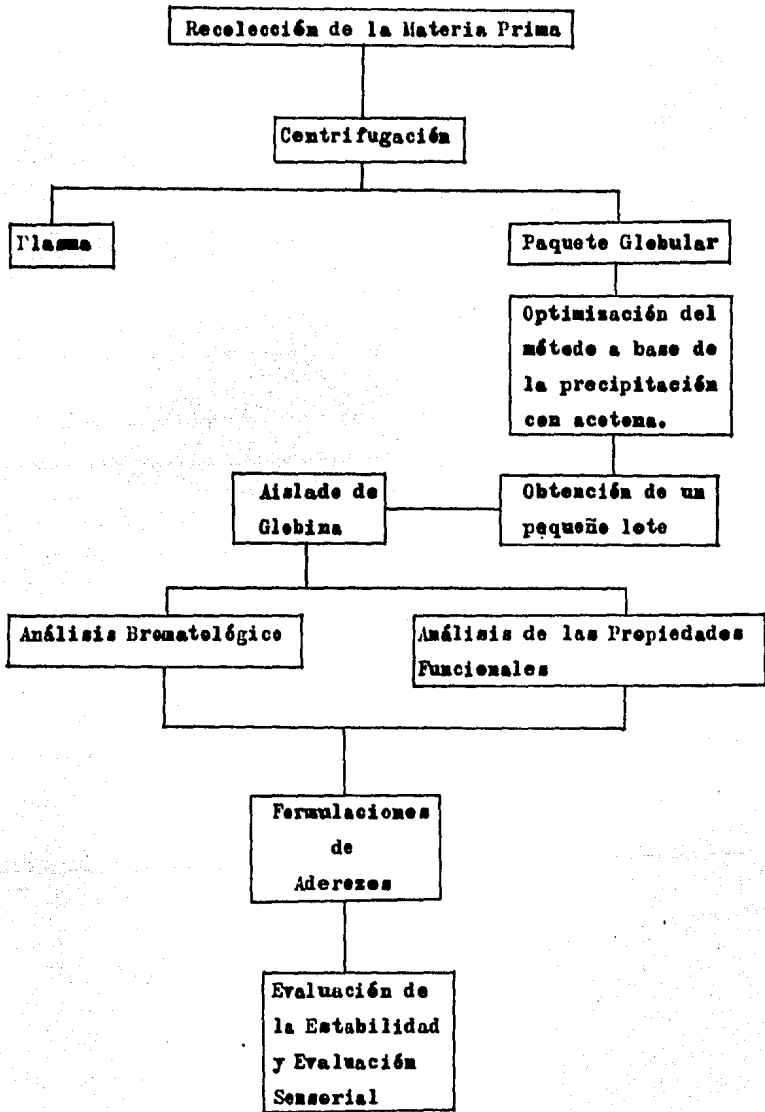


Fig 22. Diagrama de Bloques de la Secuencia Experimental

RESULTADOS

Se procesaron 8.5 kg de sangre, separando plasma y paquete globular con una descremadora manual, los rendimientos son los siguientes:

8.5 kg sangre	-	100.0 %
5.33kg plasma líquido	-	62.70 %
3.17kg paquete globular	-	37.30 %

El rendimiento del método de Tybor et al por extracción con solventes es:

100 g	x	0.35	=	35 g
Paquete Globular		Porcentaje de Proteína (por Kjeldahl)		Rendimiento Teórico

Rendimiento Práctico

De 100 g
Paquete Globular se obtuvieron 25.59 g
de aislado de
globina

Teórico	35.0 g	-	100.0 %
Práctico	25.59g	-	73.11%

Proteína (N x 6.25)	70.41 %
Volátiles (105°C)	13.36 %
Cenizas (600°C)	0.68 %
Grasa (Soxhlet)	0.10 %
Acido Ascórbico (Indofenol)	11.55 %
Hierro (o-fenantrolina)	0.10 %

pH de una dispersión al 1.0 % de globina en
 agua destilada y deionizada 3.78

Capacidad de Absorción de Grasa (Lawhon et
 al) 2.10 g aceite / g
 maíz globina

Tabla VI Análisis Proximal y Algunas Propiedades Fisicoquímicas
 del Aislado de Globina.

Tabla VII Viscosidad en emulsiones de globina y yema de huevo a diferentes velocidades de giro en un viscosímetro Brookfield

Velocidad de rotación (Brookfield) r.p.m.	0.5	1.0	2.5	5.0	10.0	20.0	50.0	100.0
Viscosidad (cps)								
Globina (0.4%) pH 2.50	13000	10000	5000	3400	2050	1375	710	435
Globina (0.5%) pH 2.50	18000	10500	5600	3100	2000	1150	625	400
Globina (0.6%) pH 2.50	20000	12000	6000	3650	2100	1275	690	413
Globina (0.4%) pH 4.00	3000	1500	800	500	400	275	230	160
Globina (0.4%) pH 6.00	4000	2500	1200	800	500	300	140	130
Yema de Huevo (0.4%) pH 2.50	4000	2750	2000	1100	675	475	265	200
Yema de Huevo (0.5%) pH 2.50	5000	2500	1600	1000	750	475	240	150
Yema de Huevo (1.2%) pH 2.50	10000	7500	4200	2400	1450	900	600	325
Yema de Huevo (0.4%) pH 4.00	4000	2000	1600	1000	650	450	240	200
Yema de Huevo (0.4%) pH 6.00	5000	3750	2400	1500	1000	650	350	225

	Tiempo (minutos)								
	0	1	5	10	20	40	60	120	% V
	Volumen (ml)								
Globina pH 2.00	385	385	385	380	375	335	150	75	80.5
Globina pH 4.00	75	65	57	50	48	46	46	46	38.6
Globina pH 6.00	130	130	128	120	96	50	45	45	65.3
Albúmina de huevo pH 2.00	290	290	280	280	210	110	90	70	75.8
Albúmina de huevo pH 4.00	360	360	360	350	325	250	125	100	72.2
Albúmina de huevo pH 6.00	350	350	340	340	300	200	120	80	77.1

Tabla VIII Capacidad Espumante de la Globina comparada con Albúmina de Huevo, en función del pH.

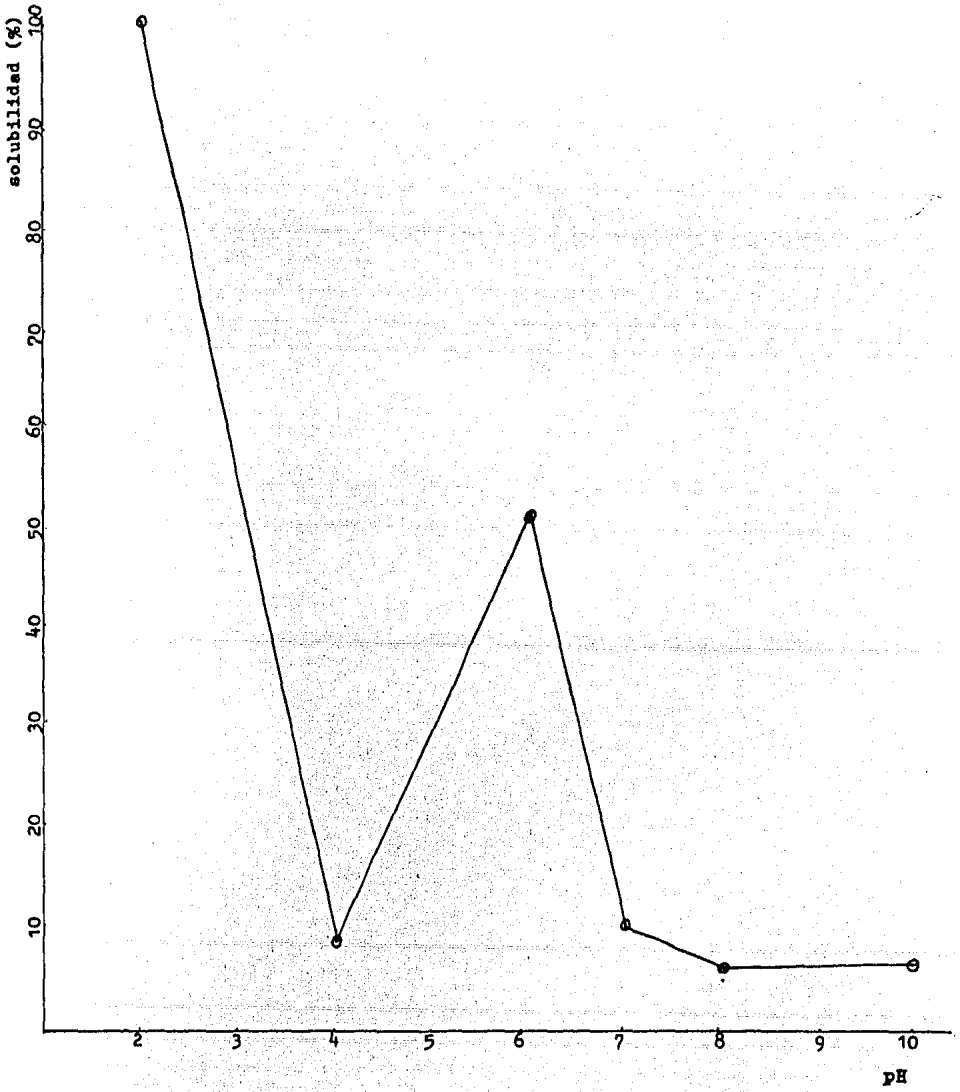
ph	Yema de Huevo dB/dpH	Glebina dB/dpH
1.5	198.80	161.80
2.0	33.82	114.75
2.5	9.63	37.59
3.0	1.81	12.04
3.5	0.91	4.70
4.0	0.68	-
4.5	0.64	0.20
5.0	0.60	0.16
5.5	0.52	0.14
6.0	0.32	0.12
6.5	0.17	0.11
7.0	-	0.10
7.5	0.06	0.09
8.0	0.07	0.08

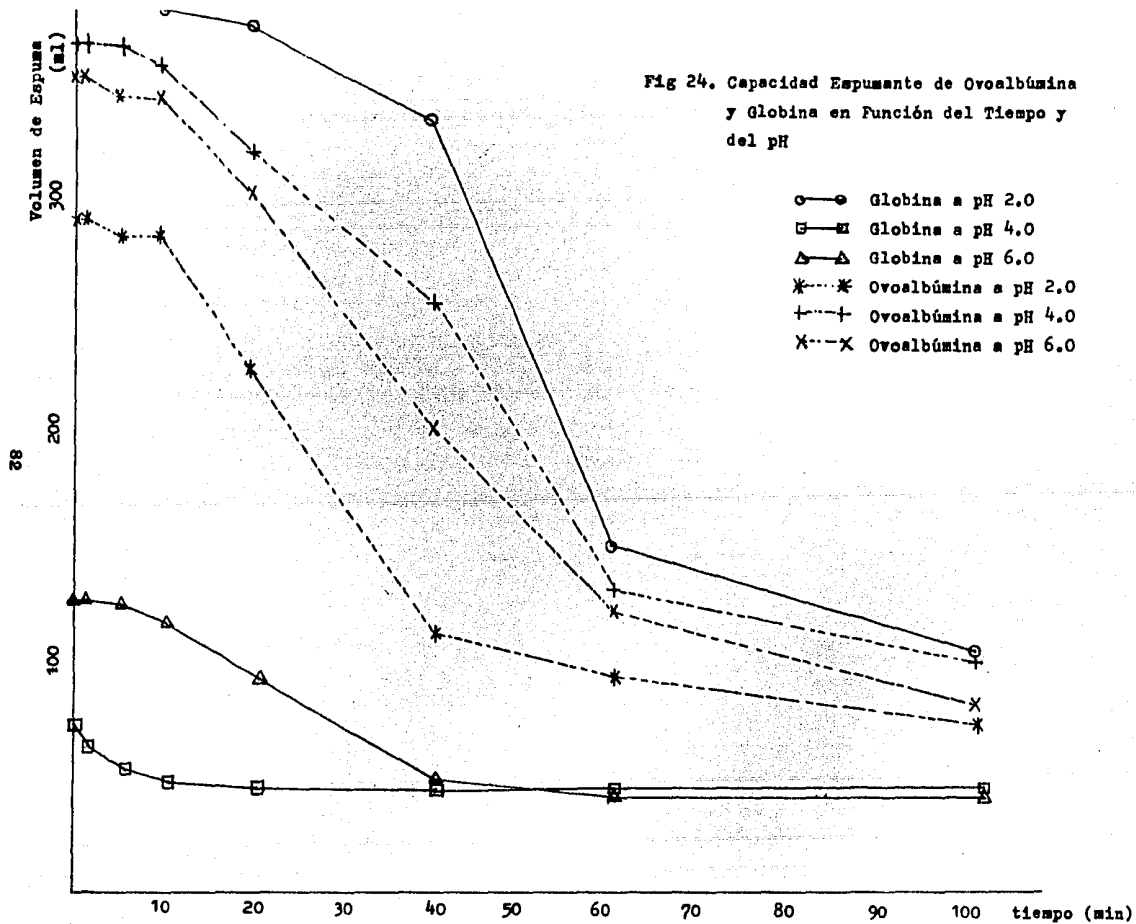
Tabla IX. Capacidad Amortiguadora de la Glebina Obtenida y Comparada con Yema de Huevo.

	Referencia	Fórmula A	Fórmula B	Fórmula C
Azúcar	2.00	2.00	2.00	2.00
Sal	1.50	1.50	1.50	1.50
Almidón	0.80	0.80	1.00	1.00
Mostaza	1.00	1.00	1.00	1.00
Goma Xántica	0.50	0.50	0.50	0.50
Pimienta Negra	0.20	0.20	0.20	0.20
Yema de Huevo	10.00	-	-	-
Aislado de Globina	-	0.50	0.50	0.50
Aceite de Maíz	60.00	60.00	60.00	60.00
Agua	18.84	26.84	26.64	27.14
Vinagre	4.65	4.65	4.65	4.65
Maltodextrina	0.50	2.00	0.50	1.00
Jugo de Limón	-	-	1.50	0.50
EDTA	0.01	0.01	0.01	0.01

Tabla I Formulaciones de Aderezos a Base de Globina y Aderezo Referencia Preparado con Yema de Huevo.

Fig 23. Curva de Solubilidad de la Globina en Función del pH





viscosidad (x 1000 cps)

Fig 25. Curva Reológica para emulsiones Preparadas con Yema de Huevo y Globina a Diferentes Concentraciones de Proteina y a un pH de 2.5

- globina 0.4% proteina
- △—△ globina 0.5% proteina
- globina 0.6% proteina
- +...+ yema de huevo 0.4% proteina
- X...X yema de huevo 0.5% proteina
- *...* yema de huevo 1.2% proteina

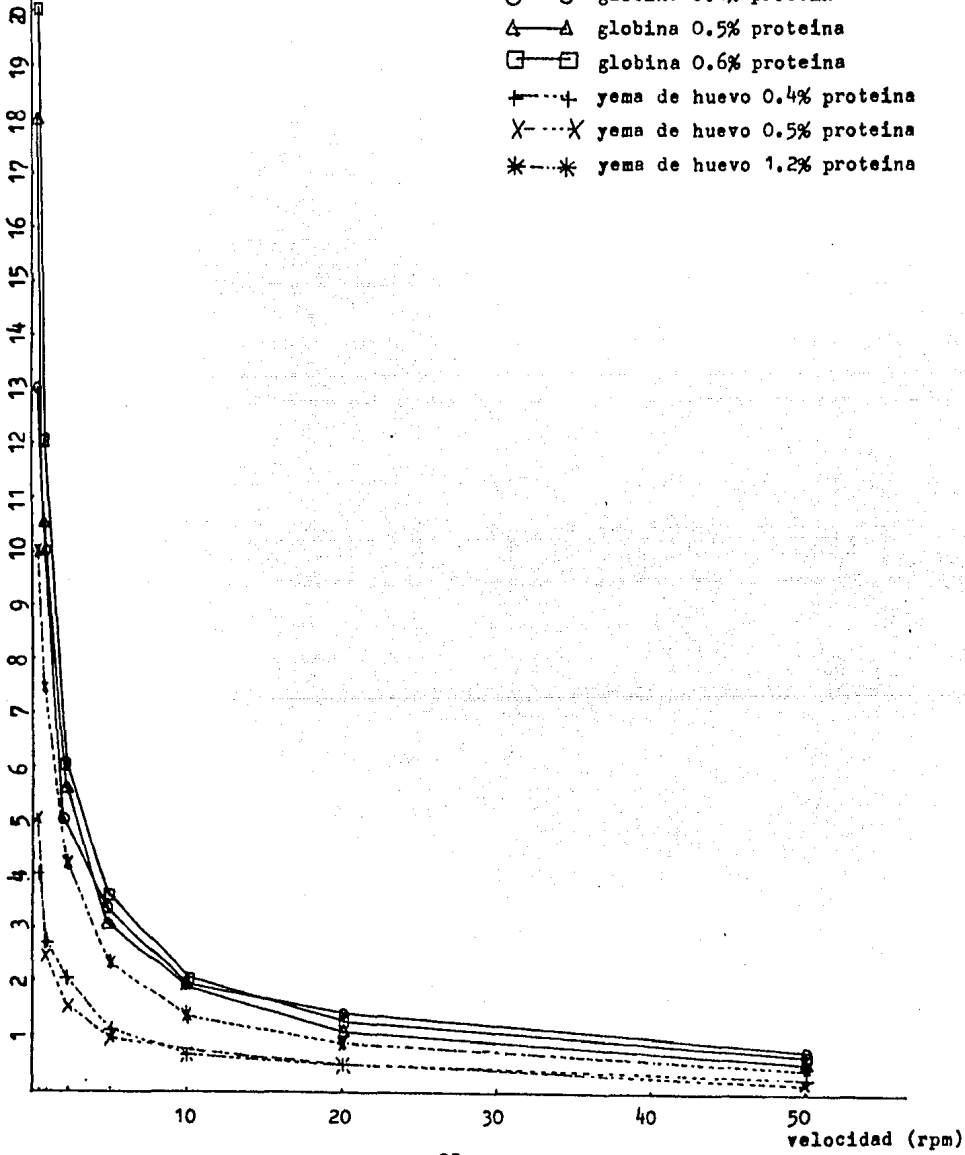


Fig 26. Curva Reológica de Emulsiones Preparadas con Yema de Huevo y Globina a un pH de 2.5

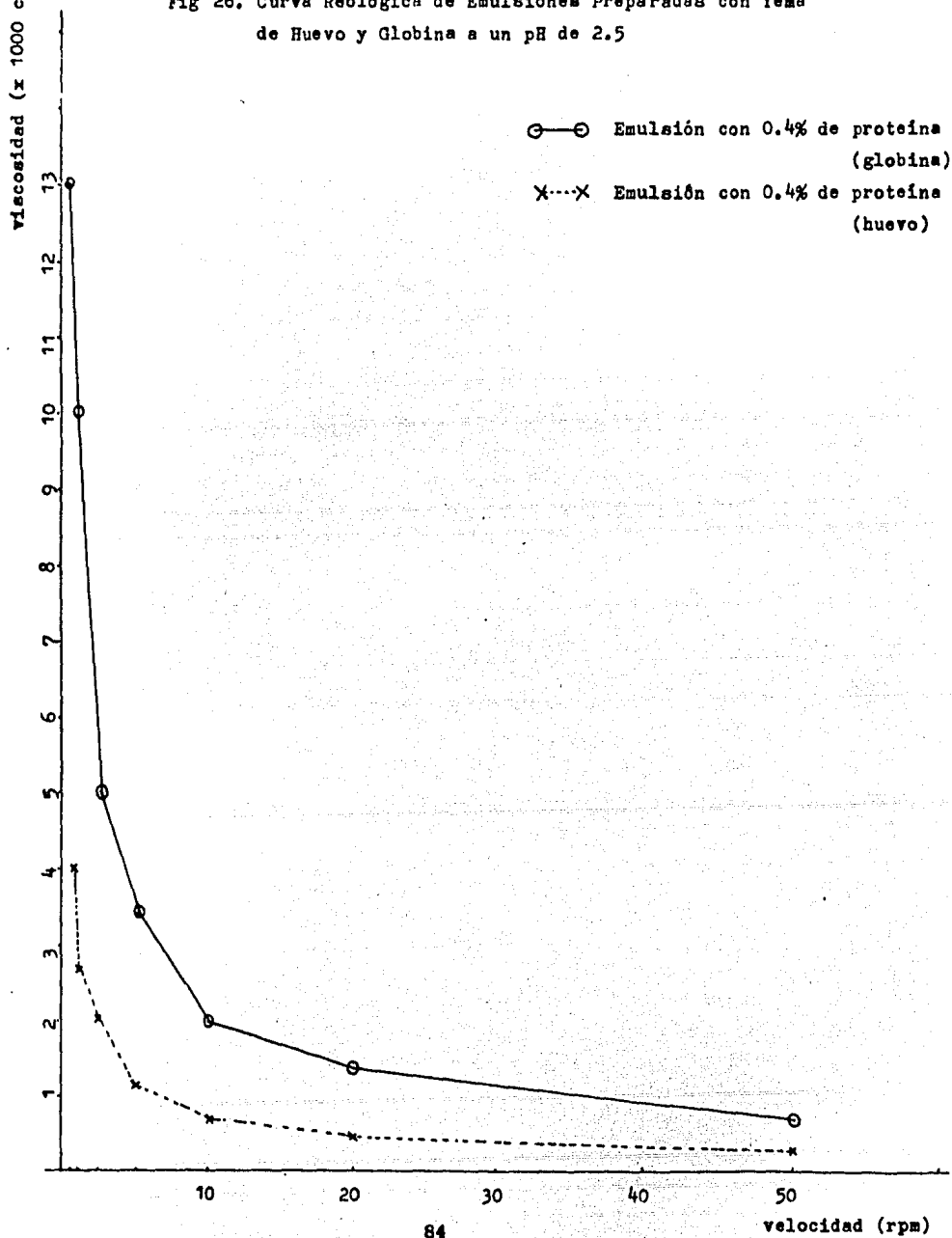


Fig 27. Curva Reológica de Emulsiones Preparadas con Yema de Huevo y Globina a un pH de 4.0

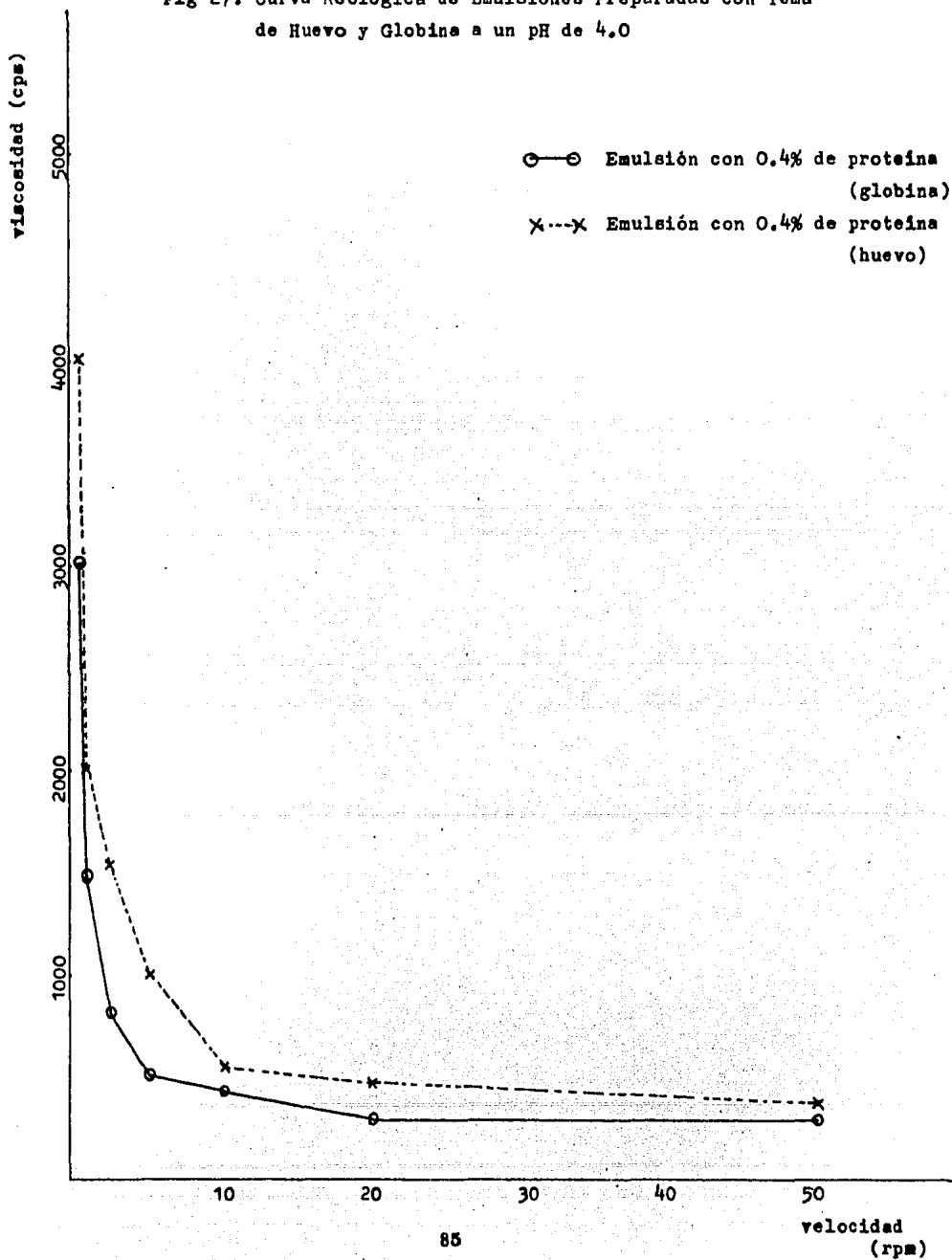
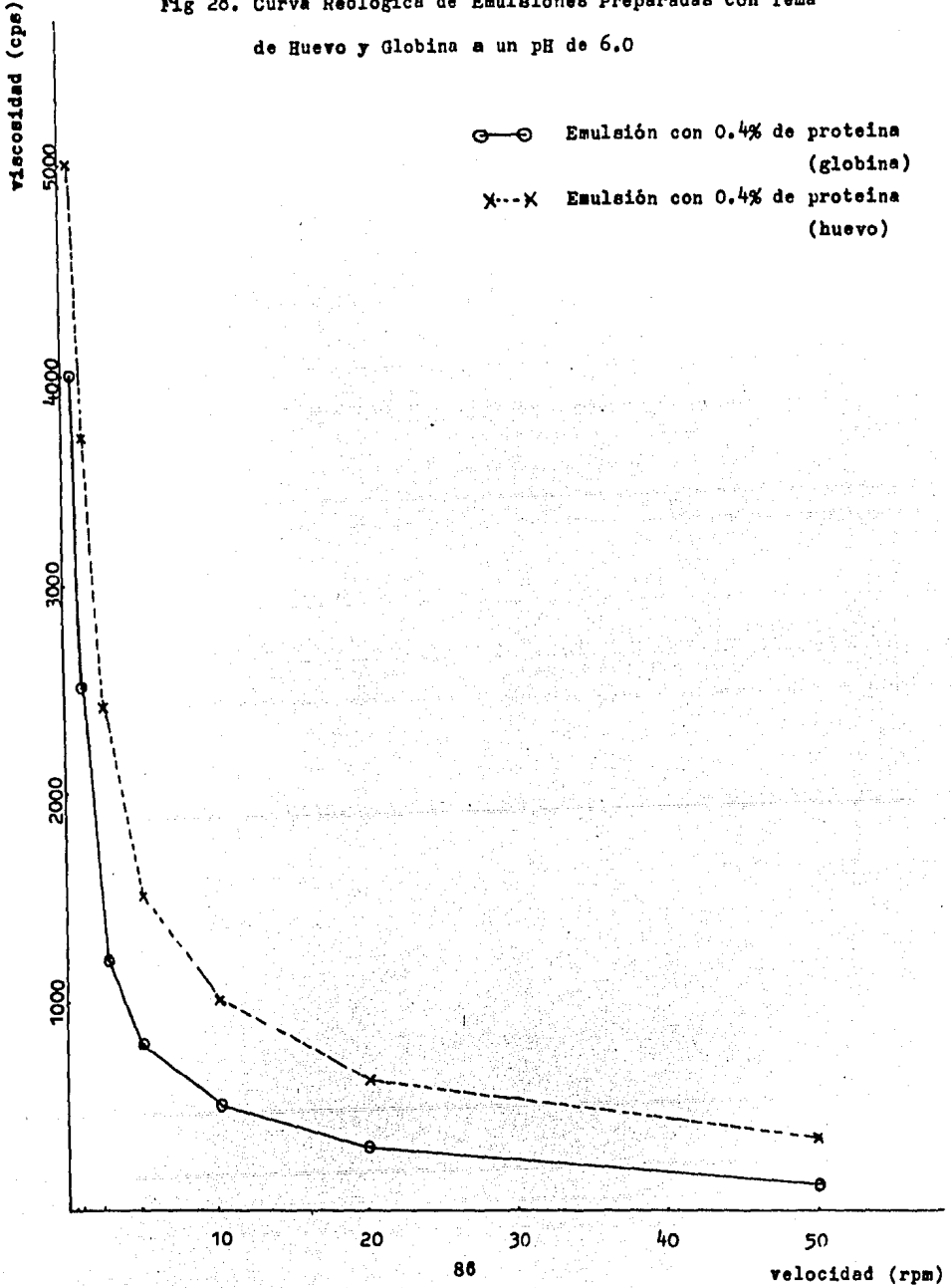


Fig 28. Curva Reológica de Emulsiones Preparadas con Yema de Huevo y Globina a un pH de 6.0



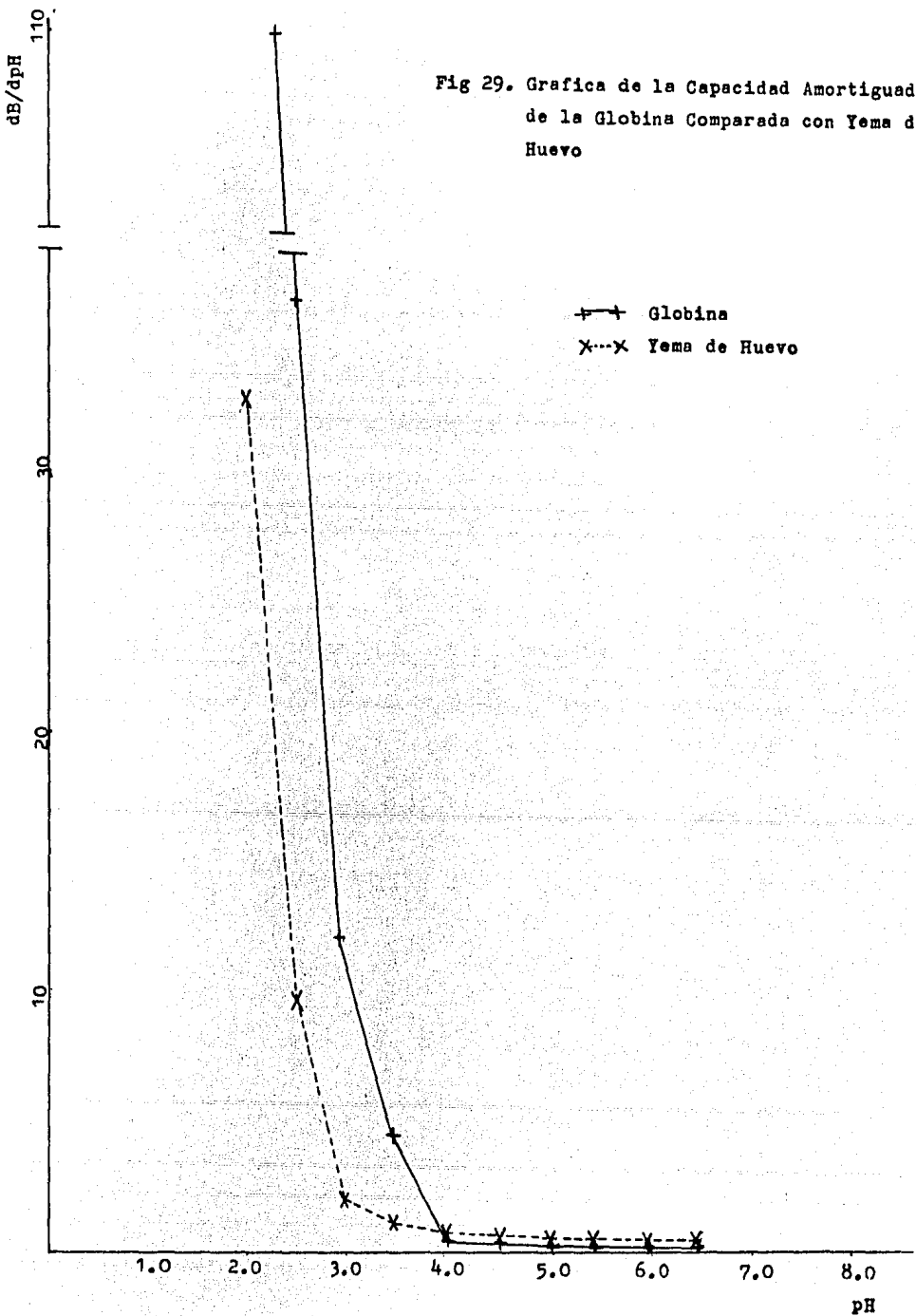
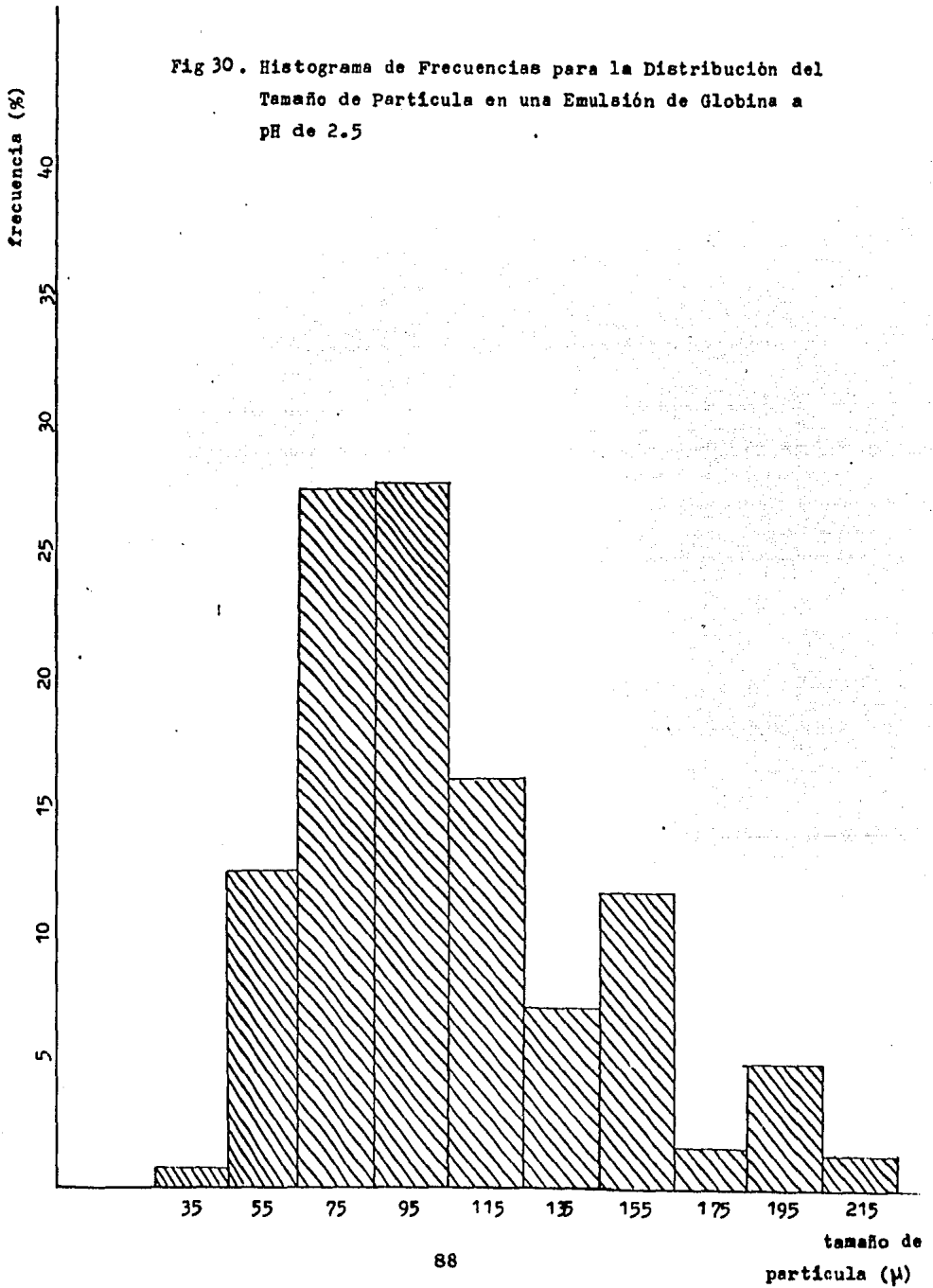


Fig 29. Grafica de la Capacidad Amortiguadora de la Globina Comparada con Yema de Huevo

+ + Globina
 x x Yema de Huevo

Fig 30. Histograma de Frecuencias para la Distribución del Tamaño de Partícula en una Emulsión de Globina a pH de 2.5



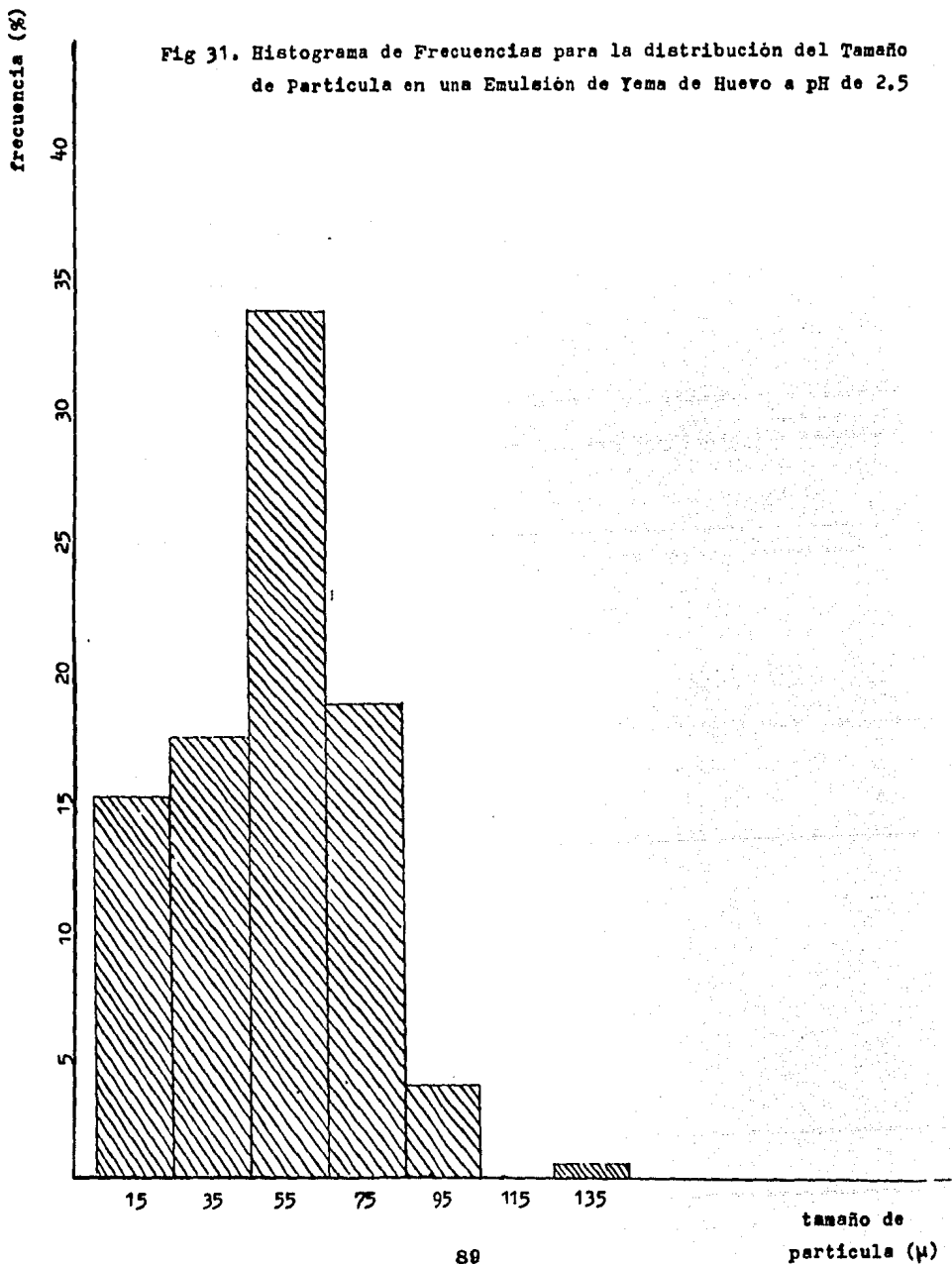
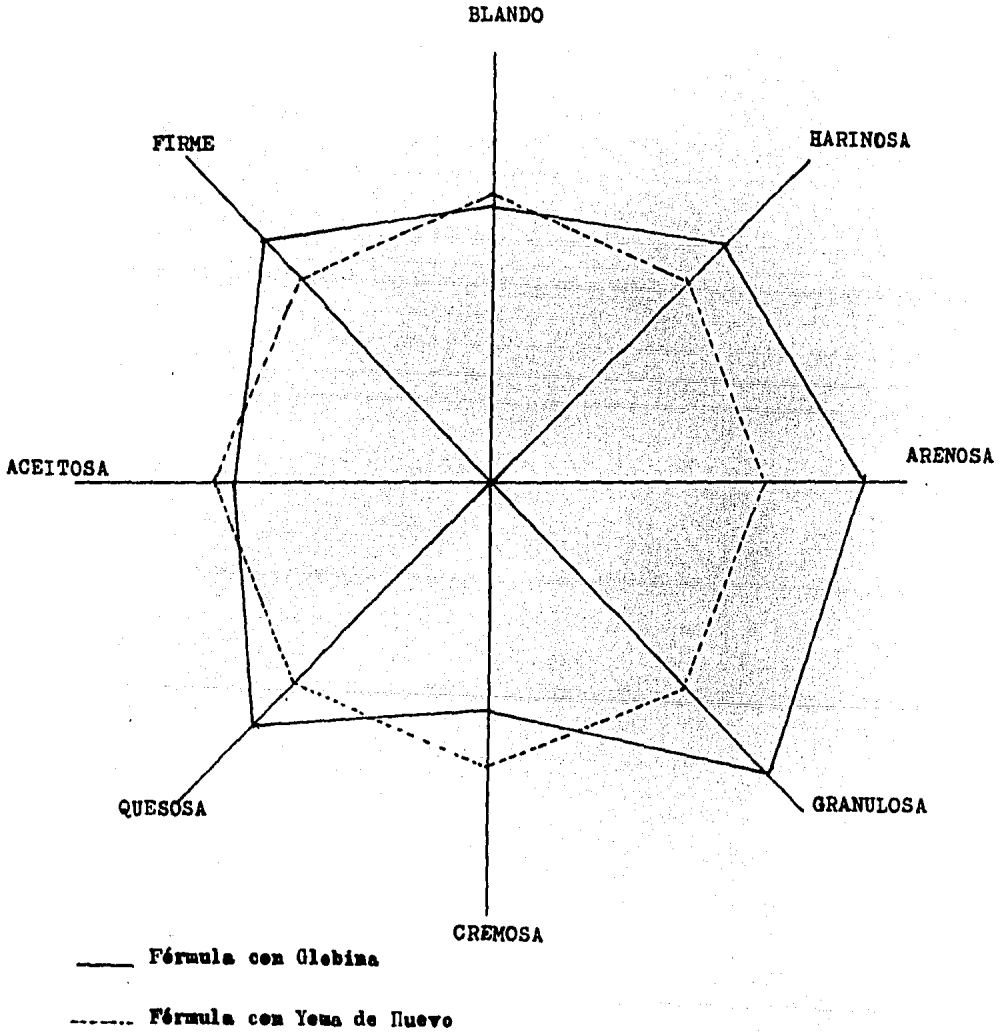


Fig 32. Perfil Descriptivo de Textura para el aderezo preparado a base de Globina.



Discusión de Resultados

Durante la recolección de la sangre se extremaron las condiciones higiénicas y para ello se empleó el metabisulfito de sodio; además del cierre hermético con el que estaba provisto el garrafón para la recolección.

El uso de la descremadora manual como medio para centrifugar la sangre dió magníficos resultados y los porcentajes de rendimiento concuerdan con los resultados bibliográficos.

Para la eliminación del grupo hemo del paquete globular se eligió el método de extracción con solventes propuesto por Tybor et al^{51,52} que a pesar de ser relativamente costoso para su utilización a nivel industrial es el más adecuado cuando se quiere proteger al máximo las propiedades funcionales de las proteínas; el método de precipitación con carboximetilcelulosa (Cap 2; 2.4.3) no es aplicable, puesto que se requiere de un producto muy específico y no disponible en el país (Carboximetilcelulosa Hércules 12M31PD) además que éste método aún no cuenta con amplias referencias bibliográficas.⁴ Otros métodos como el método de obtención por acción enzimática (Cap 2; 2.4.2) requieren de enzimas muy particulares que también es necesario importar³² éstos métodos sólo son recomendables cuando se quiere fraccionar la globina en determinadas uniones peptídicas por ejemplo para favorecer la formación de sabores de reacción, (Cap 3; 3.7). El método de Tybor et al^{51,52} es poco claro en algunos de sus pasos; el punto más importante a controlar dentro del método es el pH puesto que si no es mantenido por debajo de 3.0 se obtiene un producto oscuro. El rendimiento máximo para el método es de 73.1 aunque la bibliografía no lo reporta.

Los resultados del análisis bromatológico se resumen en la tabla VI. Al separar plasma y paquete globular, la mayor parte de los minerales quedan en la primera fracción, sin embargo de acuerdo a los datos bibliográficos^{4,17,52} se esperaba un alto porcentaje de cenizas, el resultado obtenido (0.68%) indica la conveniencia de efectuar lavados con acetona no acidificada posteriores a la precipitación debido a que con ello se arrastran los residuos de ácido y sales remanentes.

El valor obtenido para los volátiles, donde se incluye el contenido de humedad y además los residuos de solvente, muestran que al suprimir el secado por aspersión, la proteína por su estructura de largas cadenas

retiene moléculas del solvente que son difíciles de eliminar, aunque desde el punto de vista sensorial no afectan mayormente. El secado por aspersión fué suprimido buscando la máxima protección de las propiedades funcionales^{38,52} de la globina, parte medular del presente trabajo.

Los resultados obtenidos en lo referente al contenido de grasa y al porcentaje de proteína concuerdan con investigaciones similares^{4,17,41,52} con la conciencia de que, si el porcentaje de volátiles es disminuido aumentará el porcentaje de proteína.

De gran importancia son los resultados para el ácido ascórbico y el hierro residuales. El ácido ascórbico es un remanente de la extracción y precipitación de la proteína; su presencia en tan alto porcentaje (11.5%) se explica sólo por su baja solubilidad en solventes orgánicos como la acetona, con lo que se dificulta su eliminación, siendo responsable por otro lado del bajo pH que presenta una suspensión acuosa del aislado al 1.0% que es de 3,78. La resolubilización del aislado en agua para luego llevar a un secado por aspersión hubiera eliminado la presencia del ácido ascórbico, sin embargo por las razones ya expuestas fué omitido.

Se logró la eliminación de alrededor del 80.0% del hierro presente en la hemoglobina¹⁴, pero el hierro residual (alrededor de 0.1%) puede ocasionar problemas en las formulaciones de aderezos^{4,34} puesto que el hierro cataliza las reacciones de oxidación de grasas. La eliminación del hierro se puede optimizar reduciendo el pH de precipitación y llevándolo a valores tan bajos como 1.0 ó 2.0; sin embargo una reducción tan drástica del pH va en detrimento directo de la estructura de los aminoácidos que conforman la globina, lo cual se reflejaría en una alteración de sus propiedades funcionales³⁸.

En lo que se refiere al análisis de las propiedades funcionales y empezando por la solubilidad, se encontró que la máxima solubilidad para el aislado de globina obtenido se tiene a un pH de 2.0, mientras que el mínimo se presenta a un pH de 4.0 (figura 23); resultados que difieren mucho de los reportados en otras investigaciones^{4,17,51,52} pero tal variación es atribuible a la supresión del secado por aspersión. Por encima de un pH de 7.0 la solubilidad decrece a menos de un 10.0%; ésto es importante pues muchas propiedades funcionales dependen directamente de la solubilidad

éste es, por encima de un pH de 7.0, algunas propiedades funcionales como las espumantes, las emulsificantes y las ligantes de agua, seguramente serán deficientes.

En cuanto a las propiedades espumantes, encontramos que el mayor volumen de espuma para la globina se obtiene a un pH de 2.0 y el menor a 4.0; resultados coincidentes con el perfil de solubilidad y que además corroboran la interdependencia entre una propiedad y otra. La ovalbúmina empleada como patrón de comparación presenta su mayor volumen de espuma a un pH de 4.0 y el menor a 2.0. Como se aprecia en la figura 24, al pH en el cual cada proteína produce mayor volumen de espuma, la globina presenta una mayor estabilidad con respecto al tiempo.

Las curvas reológicas^{7,13,30,43} en función de la concentración de proteína y del pH se representan en las figuras 25, 26, 27 y 28. La globina presenta una mayor capacidad emulsificante a un pH de 2.5, efecto que se ve disminuido al incrementar el pH, lo cual se ajusta nuevamente al patrón de solubilidad. La yema de huevo mantiene un comportamiento similar en cuanto a su capacidad emulsificante en un rango de pH que va desde 2.5 hasta 6.0; al contrario de la globina cuyos cambios son más pronunciados.

Los resultados indican que la capacidad emulsificante de la globina es mucho más sensible a los cambios de pH que la yema de huevo y que si ha de ser utilizada como emulsificante en alguna formulación alimenticia el pH del producto debe ser menor a 4.0.

Con respecto al efecto de la concentración proteínica sobre la capacidad emulsificante, encontramos que a una misma concentración de proteína la capacidad emulsificante de la globina es mayor que la de yema de huevo; la globina presenta una capacidad emulsificante equivalente a la yema de huevo en una relación globina : yema de huevo, de 1 : 3.

La capacidad de absorción de grasa del aislado (2.1 g aceite de maíz/ g proteína) es equivalente a la de algunos aislados de oleaginosas como la soya^{10,18}.

Los resultados de la capacidad amortiguadora, se presentan en la figura 29; como se observa a pH menores de 4.0, tanto la globina como la yema de huevo presentan un poder amortiguador muy deficiente; a pH menores de 3.5, el poder amortiguador de la globina es mucho mayor que el de la yema de huevo.

Las figuras 30 y 31 muestran los histogramas de frecuencia de los tamaños de partícula para emulsiones de globina y yema de huevo a un pH

de 2.5.

El tamaño de partícula para la emulsión de globina es ligeramente mayor que para el huevo, lo cual puede repercutir en una menor estabilidad sin embargo el factor determinante en la estabilidad de las emulsiones es el grado de dispersión, que en ambos casos es muy pequeño aunque ciertamente se presenta en mayor grado para la emulsión a base de globina.

La tabla X presenta las formulaciones evaluadas y un patrón a base de yema de huevo. En lo referente al proceso sólo es necesario señalar que la globina debe ser dispersada en el vinagre, jugo de limón y agua de la formulación, agregando a la mezcla el EDTA que actúa como sequestrante del hierro residual en el aislado, mismo que cataliza la oxidación del aceite de maíz (una alternativa es emplear aceite de ajonjolí que posee ácidos grasos con menores porcentajes de dobles ligaduras).

Para la prueba de perfil descriptivo de textura se seleccionó la formulación "C"; el panel entrenado fué previamente familiarizado con cada uno de los términos empleados en la descripción, el perfil se puede ver en la figura 32 comparado contra la referencia de yema. En cuanto a éste tenemos que: la continuidad es idéntica a la de la referencia; es más dura y más firme. De los tamaños de partícula evaluados (granulosa, arenosa y harinosa) tenemos que es más harinosa que la referencia y por lo que toca a las sensaciones táctiles es menos cremosa, más quesosa e igual de aceitosa que la referencia.

Conclusiones

La globina de bovino es un excelente agente espumante, amertiguador y sobre todo emulsificante; sin embargo las condiciones de secado son determinantes en el mejoramiento de dichas propiedades, pues ellas dependen directamente de la solubilidad y ésta a su vez del secado mismo; el pH es decisivo, la globina debe emplearse en alimentos con pH menores de 4.0. Un aislado de globina es capaz de sustituir con ciertas reservas, como emulsificante a la yema de huevo en una formulación tan delicada como lo es un aderezo; lo cual hace pensar en su posible utilización como emulsificante y ligante de grasa en otros alimentos que tengan como característica común el encontrarse a un pH ácido, por debajo de 4.0. Es necesario mejorar los rendimientos y eficiencia en la eliminación del hierro por el método de precipitación con acetona e bien recurrir a métodos alternativos para la eliminación del color así como extender la investigación en lo que se refiere a la obtención de hidrolizados enzimáticos de globina por ejemplo, lo cual puede ofrecer mayores y más variadas aplicaciones para una proteína que es desechada en nuestro país.

BIBLIOGRAFIA

1. A.O.A.C. "Official Methods of Analysis" 13th Ed. Association of Official Analytical Chemists" Washington D.C. 1980.
2. Anónimo. Leaf Protein: Scant Research Despite Economic Potential Feed Prod. Develop. 9(9):62-67.(1975.)
3. Anónimo. Blutkonservierung. Fleischwirtschaft. 60(9):1625-1626. (1980.)
4. Antie K., Kiesvaara M., Mäilki Y., Kauko S. Chemical and Functional Properties of Blood Globin Prepared by a New Method. J. Feed. Sci. 49(2):859-862.(1984.)
5. Bates R.P., Wu L.C., Murphy B. Use of Animal Blood and Cheese Whey in Bread: Nutritive Value and Acceptance. J. Feed. Sci. 39(2):585-587.(1974.)
6. Beauchat L.R. Functional and Electrophoretic Characteristics of Succinylated Peanut Flour Protein. J. Agris. Feed. Chem. 25:258.(1977)
7. Bourne M.C. Feed Texture and Viscosity p 247-276. Acad. Press. New York. (1982)
8. Caldireni H.A., Oskerman H.W. Incorporation of Blood Proteins into Sausage. J. Feed. Sci. 47(2):405-408. (1982)
9. Crenwelge D.D., Dill C.W., Tyber P.T., Landmann W.A. A Comparison of the Emulsification Capacities of some Protein Concentrates. J. Feed. Sci. 39(1):175. (1974)
10. Etheridge P.A., Hickson D.W., Young C.R., Landmann W.A., Dill C.W. Functional and Chemical Characteristics of Bovine Plasma Proteins Isolated as a Metaphosphate Complex J. Feed. Sci. 46(6):1782-1788 (1981)
11. González L.E. Industrialización de la Sangre para Consumo Humano Inform. Cien. y Tecnol. 6(95):41-42. (1984)
12. Fretheim K., Nerdal J., Slinde E. Production of a Flavoring with Meat-Like Sensory Properties from Slaughter Animal Blood. Proceedings of the European Meeting of Meat Research Workers. No. 25 10.8:829. (1979)
13. Friberg S. Feed Emulsions. p 340-345. Marcel Dekker. U.S.A. (1976)
14. Harper H.A. Manual de Química Fisiológica. p 532. El Manual Moderno S.A. Cuarta Ed. Madrid España. (1975).
15. Harper J.P., Suter D.A., Dill C.W., Jones E.R. Effects of Heat Treatment and Protein Concentration on the Rheology of

Bovine Plasma Suspensions. J. Food. Sci. 43(6): 1204-1209. (1978).

16. Hayakawa S., Ogawa T., Sato Y. Some Functional Properties Under Heating of the Globin Prepared by Carboxymethylcellulose Procedure. J. Food. Sci. 47(6):1415-1416. (1982)
17. Himejosa P.A., López V.P.P. Obtención de Plasma Sanguíneo de Bovinos y Percines y su Empleo en la Fortificación de Pastas Alimenticias. Tesis U.N.A.M. México D.F. p 53-73. (1981).
18. Huang F., Rha C.K. Rheological Properties of Single Cell Protein Concentrate. J. Food. Sci. 36(7):1131-1134. (1971).
19. Kelco Ind. Formulations for Egg Yolk Dressings. Personal Communication (1960).
20. Khan M.N., Rooney L.W., Dill C.W. Baking Properties of Plasma Protein Isolate. J. Food. Sci. 44(1):274-276. (1979).
21. King J., Aguirre C., de Pabre S. Functional Properties of Lupin Protein Isolates (Lupinus albus cv. Multelupa). J. Food. Sci. 50(1):82-87. (1985).
22. Kreyszig E. Introducción a la Estadística Matemática p 31-33. Primera Edición. Editorial Limusa. México. (1970).
23. Lavhon J.T., Cater C.M. Effect of Processing Method and pH of Precipitation on the Yields and Functional Properties of Protein Isolates from Glandless Cottonseed. J. Food. Sci. 36(2):372-376. (1971).
24. Ledward D.A., Lavrie R.A. Recovery and Utilization of by-product Proteins of the Meat Industry. J. Chem. Technol. Bio-technol. 34B (3):182-189. (1984).
25. Li-Chan E., Nakai S., Wood D.F. Hydrophobicity and Solubility of Meat Proteins and their Relationship to Emulsifying Properties. J. Food. Sci. 49(2):345-350. (1984).
26. Lim M.J., Humbert E.S., Sosulski F.W. Certain Functional Properties of Sunflower Meal Products. J. Food. Sci. 39(2):368-370. (1974).
27. Ma C.Y. Functional Properties of Acylated Oat Protein. J. Food. Sci. 49(4):1128-1131. (1984).
28. Merr C.V., Swenson F.E., Richter R.L. Functional Characteristics of Whey Protein Concentrates. J. Food. Sci. 38(2):324. (1973).

29. Nakamura R., Hayakawa S., Yashuda R., Sato Y. Emulsifying Properties of Bovine Blood Globin: A Comparison with some Proteins and their Improvement. *J. Feed. Sci.* 49(1):102 (1984).
30. Nelam M. The Quick Method for the Determination of the Emulsifying Properties in Protein Isolates. Stability in Egg Yolk Emulsions. Personal Communication C.P.C. International. Englewood Cliffs N.Y. (1982).
31. Norma Oficial Mexicana NOM-F-341-S-1979. Aderezo con Mayonesa. Secretaría de Patrimonio y Fomento Industrial. (1979).
32. Neve Enzymes. Deceleración de Sangre de Matadero mediante la Aplicación de Alcalasa^R 0.6 L. Comunicación Personal. Neve Industries. Denmark. (1982).
33. Oord. A.H.A., Van den Woudorp J.J. Deceleration of Slaughterhouse Bleed by Treatment with H₂O₂. Proceedings of the European Meeting of Meat Research Workers. No. 25 10.7.825. (1979).
34. Orlandini V.M. Recupere di Proteine e di Altri Componenti Industrialmente Utili da Effluenti e Materiali di Scarto di Processi Industriali. *Ind. Alimentari.* 20(185):517-526 (1981).
35. Quaglia G.B., Tasselli F. Influence of Chemical and Physical Parameters on Ultrafiltration of Bovine Blood Plasma. *Ind. Alimentari.* 19(9):671-675. (1980).
36. Rodríguez-Palacios F.J. Algunas Propiedades Funcionales de las Proteínas en Alimentos y los Métodos para su Evaluación. *Ind. Alm.* 7(6):4-19. (1985).
37. Sathe S.K., Iyer V., Salunkhe D.K. Functional Properties of the Great Northern Bean (*Phaseolus vulgaris*) proteins, amino-acid Composition, in Vitro Digestibility and Application to Cookies. *J. Feed. Sci.* 47(1):8-11.(1982).
38. Sathe S.K., Deshpande S.S., Salunkhe D.K. Functional Properties of Lupin Seed (*Lupinus mutabilis*) Proteins and Protein Concentrates. *J. Feed. Sci.* 47(2):491-497.(1982).
39. Satterlee L.D., Free B., Leven B. Utilization of High Protein Tissue Powders as Binder-Extenders in Meat Emulsions. *J. Feed. Sci.* 38(2):306. (1973).

40. Seidemann S.C., Smith G.C., Carpenter Z.L., Dill C.W. Plasma Protein Isolate and Textured Soy Protein in Ground Beef Formulations. *J. Food. Sci.* 44(6):1035-1037. (1979).
41. Shahidi F., Naczk M., Rubin L.J., Diosady L.L. Functional Properties of Bleed Globin. *J. Food. Sci.* 49(2):550-552. (1984).
42. Shahidi F., Rubin L.J., Diosady L.L., Wood D.F. Preparation of the Cooked Cured-Meat Pigment Dinitrosyl Ferri-hemochrome from Hemin and Nitric Oxide. *J. Food. Sci.* 50(1): 272-273. (1985).
43. Shaw D.J. *Introducción a la Química de Superficies y Coloides.* p 240 247. 1a.Ed. Editorial Alhambra España. (1977).
44. Shimizu M., Lei S.W., Kamegawa S., Yamauchi K. Emulsifying Properties of an N-terminal Peptide obtained from the Peptic Hydrolysate of alpha-s1 casein. *J. Food. Sci.* 49(4):1117-1120. (1984).
45. Szulski F., Humbert E.S., Ben K., Jones J.D. Functional Properties of Rapeseed Flours, Concentrates and Isolate. *J. Food. Sci.* 44(6):1349-1352. (1976).
46. Stadelman W.J., Cotterill O.J. *Egg Science and Technology* p 69,70 79-84. AVI Publ. Company. Westport Conn. U.S.A. (1978).
47. Suter D.A., Sustek E., Dill C.W., Marshall W.H., Carpenter Z.L. A Method for the Measurement of the Effect of Bleed protein Concentrates on the Binding Forces in Cooked Ground Beef Patties. *J. Food. Sci.* 41(5):1428-1432. (1976).
48. Taylor M.J., Richardson T. Antioxidant Activity of Cysteine and Pretein Sulphydryls in a Linoleate Emulsion Oxidized by Hemoglobin. *J. Food. Sci.* 45(5):1223-1227.(1980).
49. Teranishi R., Flath R.A. *Flavor Research, Recent Advances.* p 217-225. First Ed. Marcel Dekker Inc. New York. (1981).
50. Terrell R.N., Weinblatt I.J., Carpenter Z.L., Morgan R.G. Plasma Protein Isolate Effects on Physical Characteristics of all-meat and Extended Frankfurters. *J. Food. Sci.* 44(4):1041-1048. (1979).
51. Tybor P.T., Dill C.W., Landmann W.A. Effects of Deceleration and Lactose Incorporation on the Emulsification Capacity of Spray-Dried Bleed Protein Concentrates. *J. Food.*

Sci. 38(1):4-8. (1973).

52. Tyber P.T., Dill C.W., Landmann W.A. Functional Properties of Proteins Isolated from Bovine Blood by a Continuous Pilot process. J. Feed. Sci. 40(1):155-159.(1975).
53. Wilding P., Lillford P.J., Regenstein J.M. Functional Properties of Proteins in Feeds. J. Chem. Technol. Biotechnol. 34B(3):182-189.(1984).
54. Wisner-Pedersen J. Utilization of Animal Blood in Meat Products. Feed Technol. 15(8):76-80.(1979).
55. Yee J.J., Shipe W.F., Kinsella J.E. Antioxidant Effects of Soy Protein Hydrolysates on Copper-Catalyzed Methyl-Linoleate Oxidation. J. Feed. Sci. 45(4):1082-1083.(1980).
56. Young C.R., Lewis R.W., Landmann W.A., Dill C.W. Nutritive Value of Globin and Plasma Protein Fractions from Bovine Blood. Nutri. Rep. Intl. 8(4):211. (1973).