

Extracción y precipitación de proteína de semilla de algodón por vía húmeda¹

HECTOR MAYORGA, EDWIN QUINTANILLA, JAIME GONZÁLEZ
ALBERTO ARZÚ, JUAN FRANCISCO MENCHÚ y CARLOS ROLZ
Instituto Centroamericano de Investigación y Tecnología Industrial (ICAITI)
Guatemala, C. A.

RESUMEN

Se realizaron experimentos a nivel de laboratorio como una continuación del trabajo reportado con anterioridad en esta revista (14) con objeto de determinar las condiciones que permiten extraer y precipitar la máxima cantidad de proteínas de la semilla de algodón, por medio de un proceso de concentración por vía húmeda. Además se efectuaron ensayos para establecer la distribución de gopisol y de proteínas de diferente peso molecular, en función del pH de precipitación.

Los resultados obtenidos indican que 3 miliequivalentes de NaOH por gramo de harina, en una relación 1:20 (gramos de harina: mls de solvente), utilizando un tiempo de extracción de 20 minutos y a una temperatura de 60°C son las condiciones que permiten extraer una cantidad mayoritaria de proteína soluble. El pH de mayor precipitación fue localizado en el rango de pH comprendido entre 4-6 a 25°C.

Estos resultados están de acuerdo con los reportados por Berardi y colaboradores (5) excluyendo la temperatura de precipitación de la cual dichos autores no hacen mención.

En cuanto a la distribución de gopisol se encontró que es función del valor de pH, obteniéndose a pH 5 la máxima precipitación de gopisol total y la mínima de gopisol libre.

Los datos obtenidos en los experimentos para determinar la distribución de las proteínas, señalan que todos los precipitados formados a diferentes niveles de pH, contienen principalmente proteínas, de peso molecular mayor de 20.000.

¹ Esta investigación fue desarrollada dentro de los Programas Multinaciones de la Organización de Estados Americanos (OEA).

Recibido: 3-4-1972.

INTRODUCCION

Es un hecho bien conocido que existe gran escasez de proteínas en la dieta de grandes sectores de la población mundial, especialmente en los llamados países en desarrollo, escasez que será aún más aguda en los años venideros (1). También es bien conocido el hecho que existen diferentes fuentes de proteínas de bajo costo, incluyendo semillas oleaginosas, pescado y varios tipos de proteína unicelular. Sin embargo, estos materiales sólo constituyen materias primas, especialmente por su aspecto, color, sabor, textura, contenido y naturaleza de su proteína, carbohidratos, fibra, factores tóxicos, etc. Los materiales protéicos son utilizados como alimentos sólo si le son presentados al consumidor bajo la forma de alimentos aceptables en su aspecto y apetecibles. Con el objeto de eliminar o reducir al mínimo posible las características adversas para su consumo, recientemente se ha puesto gran atención a los procesos de concentración y aislamiento de proteínas a partir de las fuentes que se disponen, dado que estos concentrados y aislados ofrecen grandes oportunidades para incorporarlos a una gama enorme de alimentos deficientes en proteína.

Para la semilla de algodón, la oleaginosa que más se procesa en Centroamérica (7), se han desarrollado varios procesos de concentración (12) y aislamiento (5, 10, 11). En un informe anterior (14), se describió un proceso de concentración por vía húmeda, a nivel de planta piloto, que permite obtener concentrados de proteína soluble, de color amarillo pálido, con un contenido de proteína total entre 40 y 45% y una solubilidad de proteína superior a 99%.

Este trabajo presenta los resultados obtenidos en ensayos de laboratorio, para determinar las condiciones óptimas de extracción y precipitación de proteína de semilla de algodón, a partir de tortas producidas industrialmente en el área centroamericana. El objetivo de este trabajo es fijar las condiciones de operación para producir aislados protéicos de alto contenido de proteína.

MATERIALES Y PROCEDIMIENTOS

1. *Materiales*

Las harinas de semilla de algodón utilizadas en estos estu-

dios provenían de un proceso industrial de extracción de aceite del tipo pre-prensa solvente; fueron obtenidas de una fábrica localizada en San Salvador, El Salvador, que utiliza variedades de semilla de algodón con alto contenido de gopisol. Se utilizaron dos tipos de harina: una de ellas (harina 1), fue utilizada tal como se obtiene del proceso de extracción de aceite; la harina 2 fue molida en un molino de dientes giratorios Condux (tipo V4S). En el Cuadro 1 se muestra la granulometría de las harinas empleadas.

CUADRO Nº 1
GRANULOMETRIA DE LAS HARINAS DE ALGODON EMPLEADAS

<u>Retenido en malla (U.S.S.S.) No.</u>	<u>Harina 1</u> <u>Peso %</u>	<u>Harina 2</u> <u>Peso %</u>
20	49.76	7.03
35	22.50	26.54
60	12.03	16.55
80	2.38	1.80
100	7.14	22.13
Pasa 100	<u>6.19</u>	<u>25.95</u>
	100.00	100.00

CUADRO Nº 2
ANALISIS QUIMICO DE LAS HARINAS DE ALGODON EMPLEADAS

	Preprensa solvente		Prensa Tornillo %	Solvente directo %
	Harina 1 %	Harina 2 %		
Humedad	11.64	12.50	5.2	10.3
Proteína total (a)	43.95	42.95	45.5	44.8
Proteína soluble (b)	28.10	29.75	16.3	32.79
Solubilidad de proteína	63.94	69.27	32.82	73.2
Grasa	1.66	1.28	5.3	1.35
Fibra cruda	15.29	15.02	8.3	10.25
Ceniza	6.91	6.88	6.4	6.76
Gosipol total	1.355	1.362	1.32	1.19
Gosipol libre	0.098	0.096	0.073	0.93
Compuestos por diferencia	19.19	20.01	27.28	25.35

a Proteína - N x 6.25

b Proteína soluble en NaOH 0.02N

Todos los experimentos se efectuaron utilizando un mismo lote de harina, del cual se tomaron muestras que fueron almacenadas en frascos de vidrio sellados hasta que se utilizaron. En las harinas se analizaron sus contenidos de humedad, proteína total, proteína soluble, gosipol libre y total, fibra cruda, ceniza y grasa, los resultados se muestran en el Cuadro 2. En ciertos experimentos se emplearon harinas provenientes de procesos industriales de extracción de aceite del tipo prensa de tornillo y solvente directo. Las primeras fueron obtenidas en una fábrica de Guatemala y las segundas de una fábrica localizada en Nicaragua.

2. Procedimientos

Se efectuaron ensayos a nivel de laboratorio para determinar la concentración de NaOH, la relación harina-solvente (a dos valores de temperatura), y el tiempo de extracción que permite obtener la máxima extracción de proteína, el pH

de máxima precipitación de proteína a partir del extracto alcalino, la temperatura de precipitación, la distribución de gopól libre y total entre los precipitados obtenidos a distintos valores de pH y los sobrenadantes respectivos. Además, se realizaron experiencias para determinar la distribución de las proteínas de diferentes pesos moleculares en relación con los diferentes valores de pH ensayados en la precipitación.

2.1 *Concentración de NaOH*

Para determinar la concentración de NaOH (en 100 ml de solvente) por gramo de harina, se exploraron las concentraciones siguientes: 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 y 3.0 (meq de NaOH por gramo de harina). En estos ensayos se procedió de la siguiente manera: a un gramo de harina, base seca, se le agregaron 100 mls de la solución deseada y se agitó en matraces de 500 mls durante 1 hora, (agitador de laboratorio de temperatura controlada, G-10, New Bruswick Scientific Company), al nivel de temperatura deseado (25 a 60°C); luego se centrifugó a 10, 700 × g y 10°C, durante media hora, en una centrifuga refrigerada (Modelo B-20, International Equipment, Co.); el sobrenadante se decantó y filtró a través del papel filtro Whatman N° 4, determinándose el contenido de proteína con alícuotas de 50 mls.

2.2 *Relación harina-solvente*

Para evaluar la relación harina-solvente, se pesó la cantidad necesaria de harina en matraces de 500 ml y se le agregó la cantidad de NaOH correspondiente para cada relación. Se ensayaron las relaciones siguientes: 1:5, 1:10, 1:20, 1:60, 1:80 y 1:100 (gramos de harina: mls de solvente).

En este experimento se mantuvo constante la concentración óptima de NaOH determinada en el experimento anterior. Se realizaron experimentos a dos niveles de temperatura: (25 y 60°C) y se utilizó el mismo procedimiento de extracción.

2.3 *Tiempo óptimo de extracción*

Empleando los valores óptimos encontrados en los ensayos anteriores se efectuaron extracciones utilizando diferentes intervalos de tiempo: 0, 3, 10, 20, 30, 40, 50 y 60 minutos. Estos ensayos de extracción se realizaron a tres niveles de relación de harina-solvente: 1:10, 1:20 y 1:100. La temperatura se mantuvo a 60°C.

2.4 *pH de precipitación*

Se realizaron ensayos utilizando la harina 1 para determi-

nar el pH de máxima precipitación, además se efectuaron pruebas complementarias con dos tipos diferentes de harina: una proveniente de un proceso industrial del tipo solvente directo y la otra del tipo de prensa de tornillo. En estos ensayos se procedió de la siguiente manera: utilizando el extracto alcalino obtenido con las condiciones óptimas de extracción, se tomaron muestras de 200 mls y se titularon con HCl 0.3N hasta el valor de pH deseado, las titulaciones se efectuaron con un titulador automático (Modelo K, Beckman). El precipitado fue separado por centrifugación a $10\ 700 \times g$ y a 10°C , durante media hora. Luego se ajustó al volumen de la suspensión a 250 mls y se tomaron alícuotas de 50 mls para análisis de proteína. Los valores de pH explorados fueron 3, 4, 5, 5.5, 6, 6.5, 7 y 8. Estos ensayos se llevaron a cabo a tres niveles de temperatura: 25, 40 y 60°C .

2.5 Distribución de gosipol libre y total

La distribución del contenido de gosipol libre y total, inicialmente presente en el extracto alcalino, entre el sólido precipitado y el líquido residual, se determinó de acuerdo al siguiente procedimiento: los sólidos y sobrenadantes, obtenidos al precipitar a los valores de pH deseados, fueron secados por liofilización (Stokes, Pennwalt Corp.). Las muestras secas fueron molidas y se analizaron en ellas los contenidos de humedad, gosipol libre y total. Los valores de pH ensayados fueron: 3, 4, 5 y 6.

2.6 Efecto del pH de precipitación sobre la concentración de proteínas de diferente peso molecular, en el precipitado

Con el objeto de determinar el efecto del pH de precipitación sobre la concentración de proteínas de distinto peso molecular en el precipitado obtenido a partir del extracto alcalino, se efectuaron ensayos de fraccionamiento de las proteínas por el método de filtración gel (3,4). En estos ensayos se utilizó el extracto alcalino obtenido bajo las condiciones experimentales óptimas determinadas anteriormente. Muestras de 200 mls se ajustaron con HCl 0.3N hasta obtener los valores de pH deseados. Los precipitados fueron separados de acuerdo al procedimiento señalado anteriormente. El procedimiento de fraccionamiento fue el siguiente: se pesaron 0.5 gramos de precipitado húmedo y se disolvieron en 10 ml de una solución tampón carbonato 0.2 M, pH 10. Esta solución se

introdujo en una columna de vidrio de 2.5 cm de diámetro (Pharmacia, Suecia), empacada con Sephadex G-100 (Pharmacia, Suecia), previamente equilibrada con la misma solución tampón. La longitud empacada fue de 76 cm. La columna fue calibrada con proteínas de peso molecular conocido, de acuerdo al método de Andrews (3). La velocidad de elución fue de 40 ml/hr. Se tomaron fracciones de 10 ml cada una. La concentración de proteína en cada fracción se estimó por el método de Lowry (8).

3. Métodos analíticos

El contenido de humedad, proteína total, grasa, fibra cruda, ceniza y gopisol libre se determinaron por los métodos oficiales de AOCS (2), el contenido de proteínas soluble en 0.02N de Na OH por el método de Lyman et al. (9). El contenido de gopisol total se encontró por el método de Pons et al. (13).

RESULTADOS

Los resultados aquí presentados son el promedio de tres réplicas independientes, cada uno analizado por triplicado.

1. Determinación de las condiciones óptimas de extracción

1.1 Concentración de NaOH por gramo de harina

Las Gráficas 1 y 2 resumen los resultados obtenidos en los ensayos efectuados para determinar la concentración óptima de NaOH por gramo de harina y la temperatura de extracción. Como puede observarse, la cantidad absoluta de proteína extraída aumenta a medida que la concentración de NaOH se incrementa, independientemente del tamaño de partícula y de la temperatura de extracción. Sin embargo, el aumento de la relación entre proteína y los miliequivalentes de soda utilizados, es mayor en el rango de concentración de NaOH entre 0 y 0.5 miliequivalentes (Gráfica 3), que a cualquier rango de la concentración de soda. Este valor es independiente del tamaño de la partícula (dentro de los rangos explorados), tal como lo demuestran los comportamientos similares obtenidos con las dos harinas ensayadas, las cuales eran diferentes en cuanto a este parámetro se refiere (Cuadro 1); y de la temperatura de extracción. Estos resultados concuerdan con los reportados por Berardi et al. (5) y Martínez (10, 11), quienes determinaron que 0.4 miliequivalentes por gramo

de harina maximizaban le eficiencia de extracción con NaOH de la proteína de semilla de algodón sin procesarse.

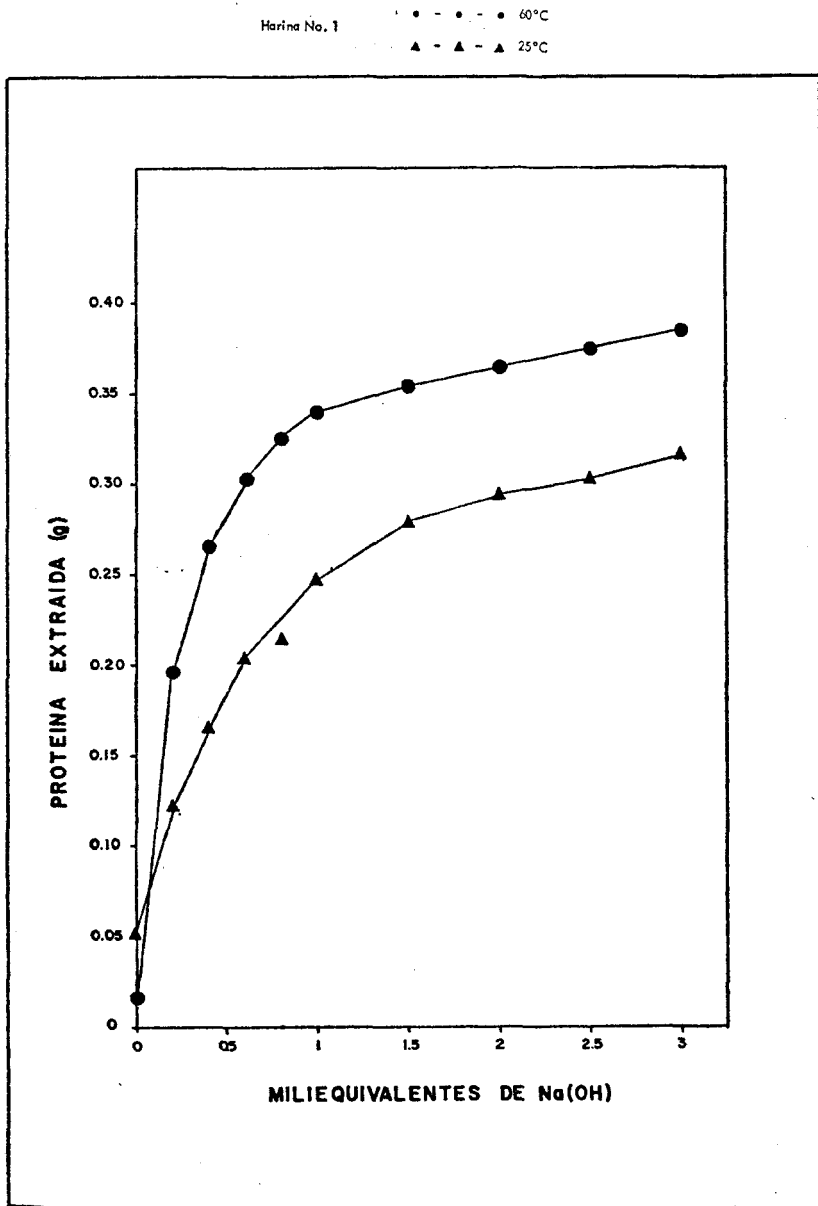
La extracción mínima de proteína fue obtenida al utilizar agua pura como solvente de extracción, la cual fluctuó entre 0.03 y 0.05 gramos de proteína, lo cual equivale entre 8 y 13% de la proteína soluble inicialmente presente. Estos resultados son mucho menores que los reportados por Martínez (10, 11) y Berardi et al. (5), quienes extrajeron con agua alrededor de 30% de la proteína soluble. De acuerdo a Berardi et al. (5), con agua destilada se extraen las proteínas de bajo peso molecular; en los experimentos por ellos realizados, se utilizaron harinas de algodón prácticamente intactas en cuanto a su calidad protéica se refiere. En el presente trabajo se emplearon harinas provenientes de semilla de algodón con alto contenido de gopiol, las cuales fueron sometidas a un proceso industrial de extracción del aceite; es decir, en términos generales, fueron sometidos a altas condiciones de temperatura y humedad. Como se ha sugerido (5), en estas condiciones, la proteína tiende a desnaturalizarse, especialmente las de bajo peso molecular. Es decir, las harinas utilizadas en este trabajo contienen menor cantidad de proteínas solubles extraíbles con agua. Por esta razón, no se investigó la posibilidad de utilizar un procedimiento de extracción en dos etapas, tal como el diseñado por Berardi et al. (5). El enfoque escogido fue en el sentido de utilizar un procedimiento de extracción en una sola etapa.

De acuerdo a los resultados que se reportan en las Gráficas 1 y 2, la cantidad absoluta de proteína extraída incrementa de acuerdo a la concentración de NaOH utilizada. Por ejemplo, a 3 meq de NaOH, se extrae alrededor de 35% más que la extraída a la concentración óptima de NaOH. Sin embargo, el incremento en proteína solubilizada tiende a ser cada vez menor. Por ello, se escogió como concentración protéica de extracción la cantidad de 3 meq por gramo de harina. Este valor se acerca al nivel escogido por Berardi et al. (5) en sus ensayos de extracción en una etapa.

Respecto a la temperatura, se puede observar que a medida que aumenta la concentración de NaOH, la extracción a 60°C se hace mayor, obteniéndose hasta un 70% más que a 25°C.

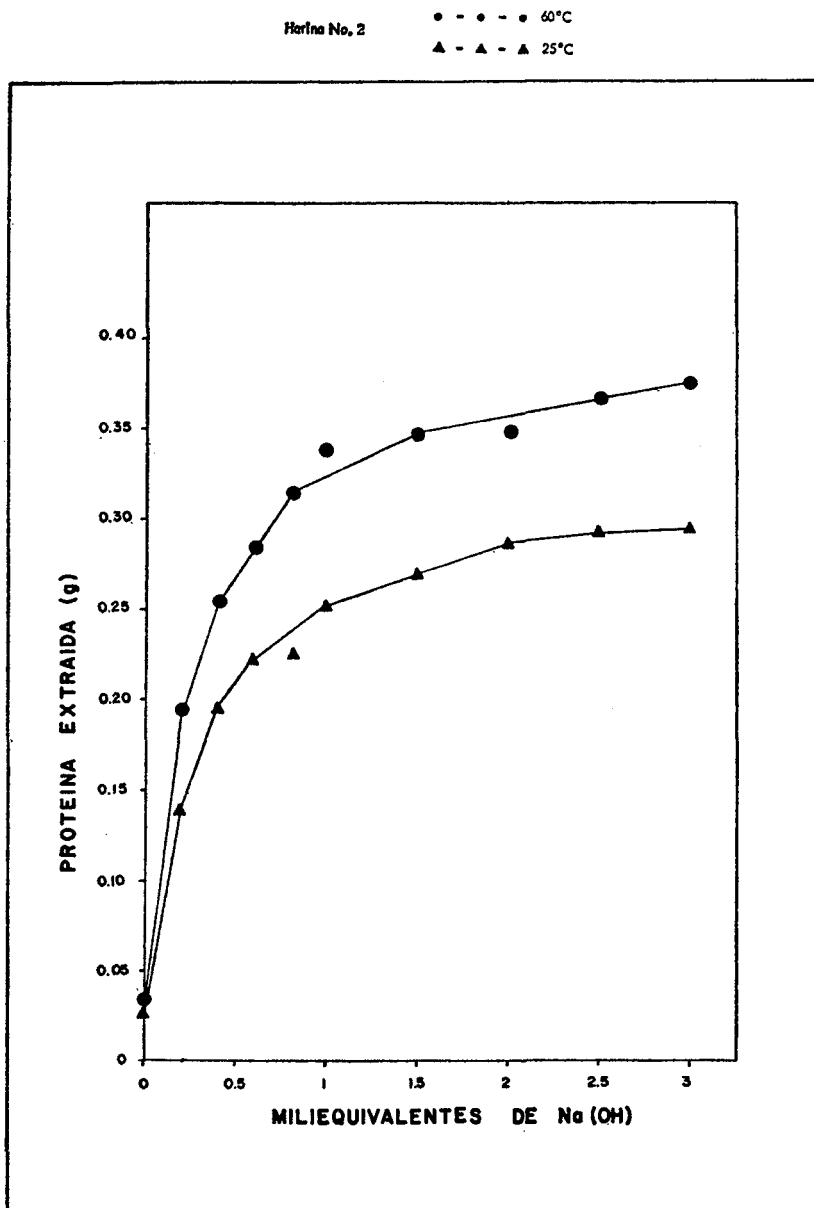
GRAFICA 1

Cantidad de proteína extraída como función de la concentración de NaOH en el solvente de extracción. Harina No. 1.



GRAFICA 2

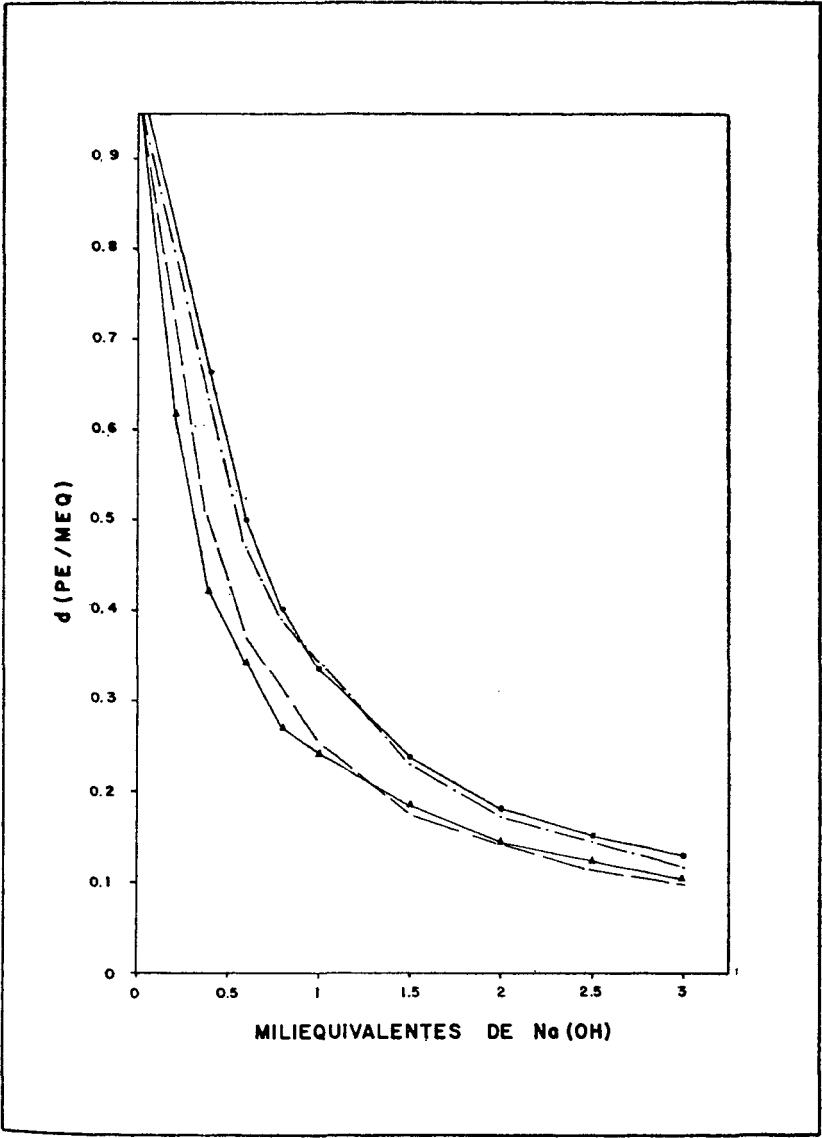
Cantidad de proteína extraída como función de la extracción de NaOH en el solvente de extracción. Harina No. 2.



GRAFICA 3

Diferencial del cociente entre la proteína extraída y los miliequivalentes de soda usados en función de la concentración de soda.

Harina No. 1 • - - • - • 60°C
 ▲ - - ▲ - ▲ 25°C
Harina No. 2 - - - - - 60°C
 - - - - - 25°C

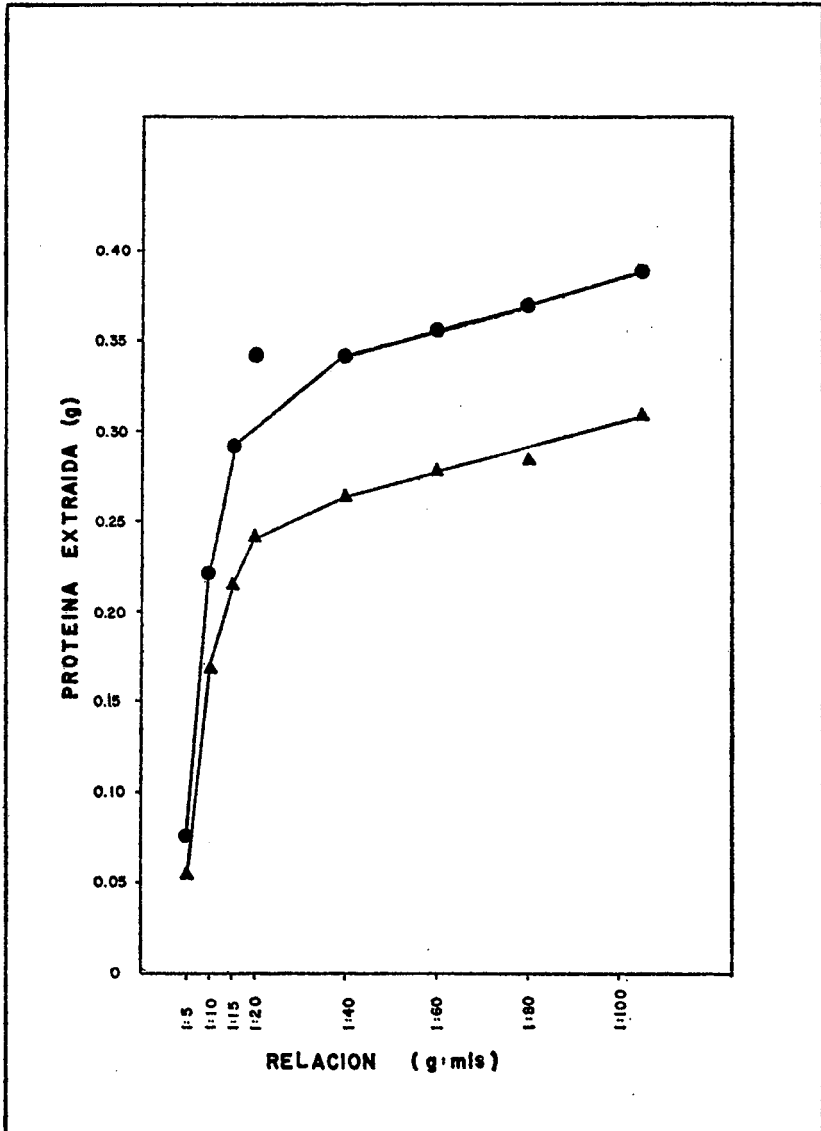


GRAFICA 4

Proteína extraída como función de la relación de harina - solvente.

• - • - • 60°C

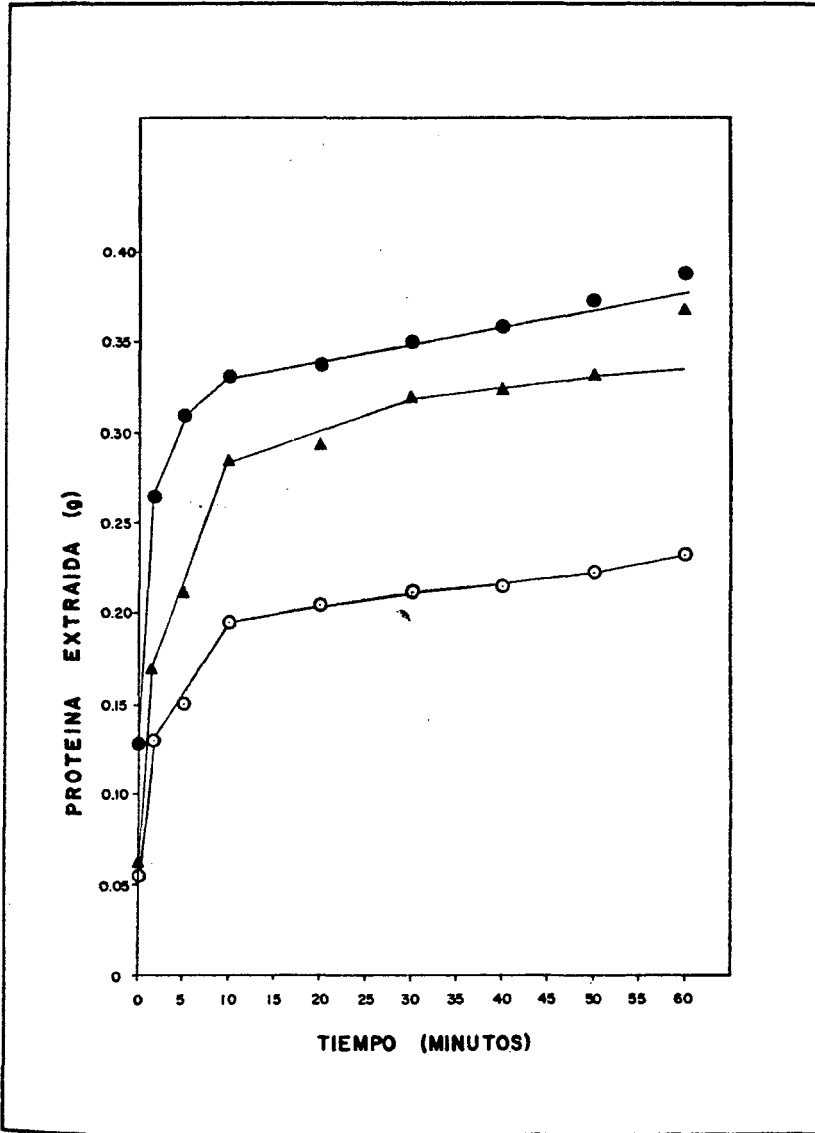
▲ - ▲ - ▲ 25°C



GRAFICA 5

Proteína extraída como función del tiempo de extracción.

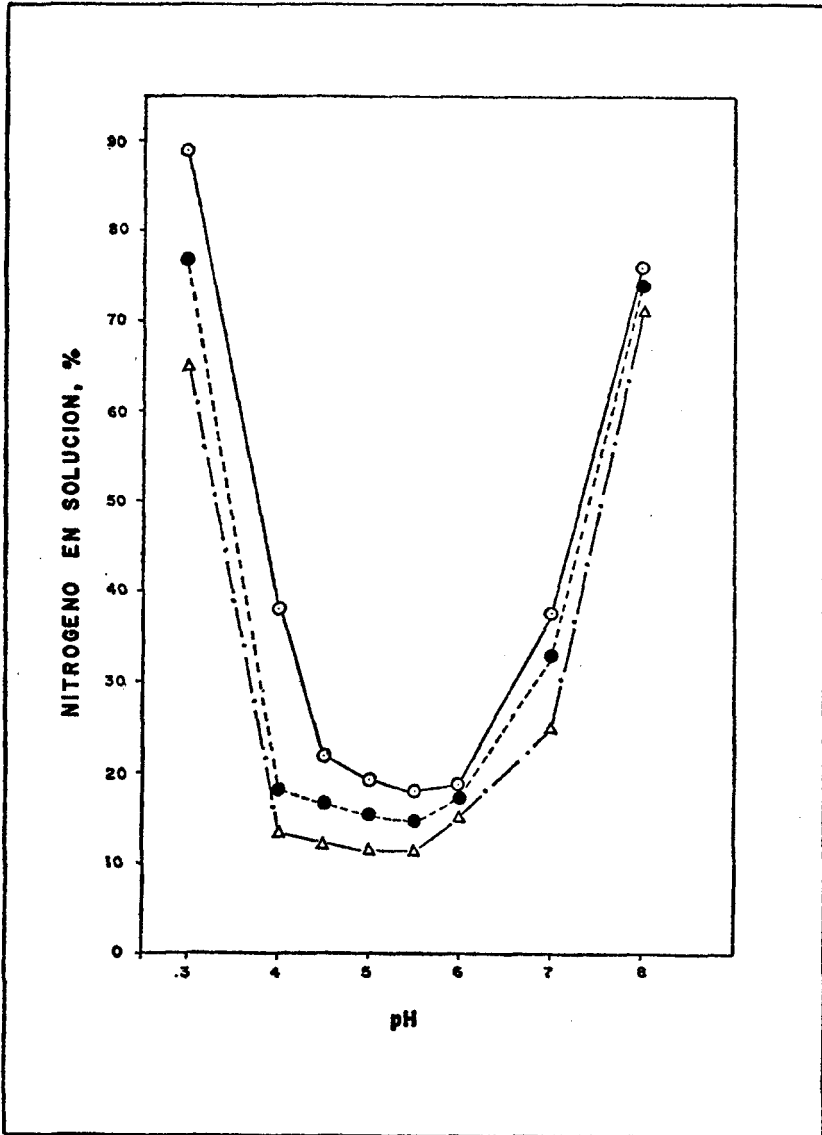
Harina No. 1 • - • - • 1:100
 Temperatura: 60°C ▲ - ▲ - ▲ 1:20
 • - ○ - ○ 1:10



GRAFICA 6

Precipitación de proteína como función del pH y temperatura. Harina obtenida de un proceso de pre-prensa-solvente.

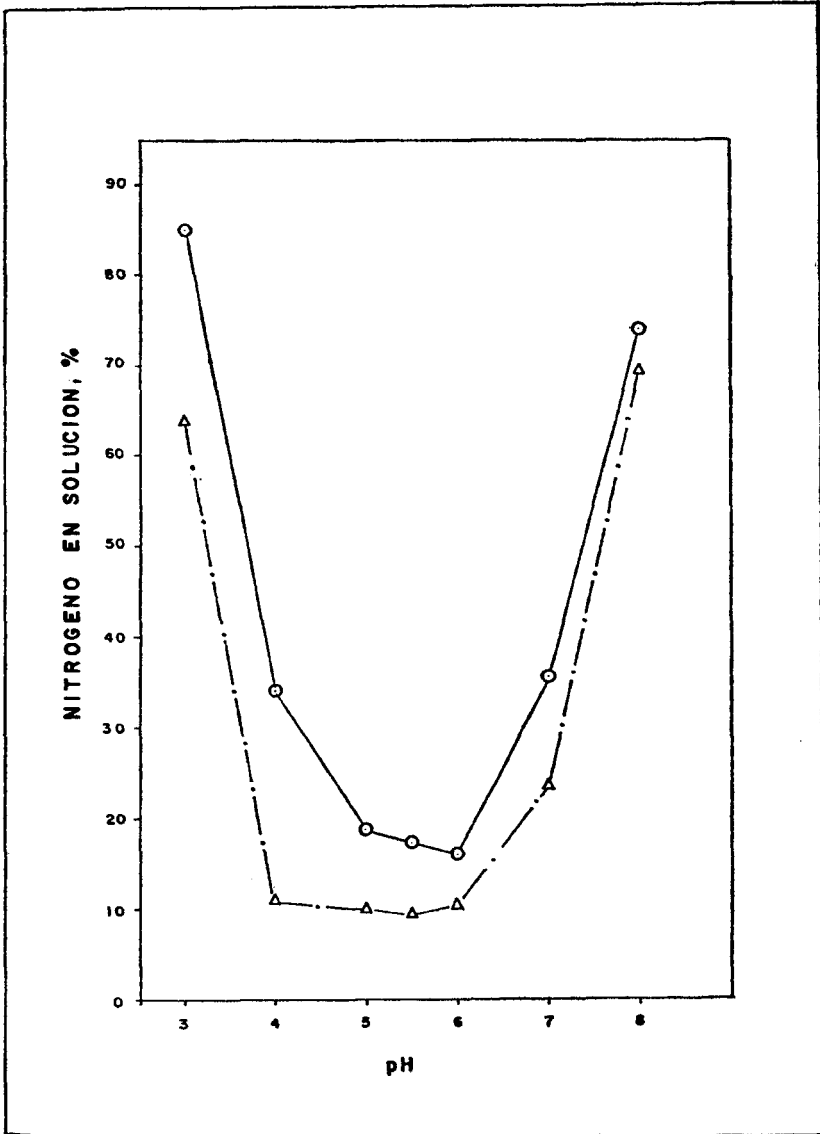
△ - △ - △ 25°C
● - ● - ● 40°C
● - ● - ● 60°C



GRAFICA 7

Precipitación de proteína como función del pH y temperatura. Harina obtenida de un proceso de solvente directo.

● - ○ - ○ 60°C
△ - △ - △ 25°C

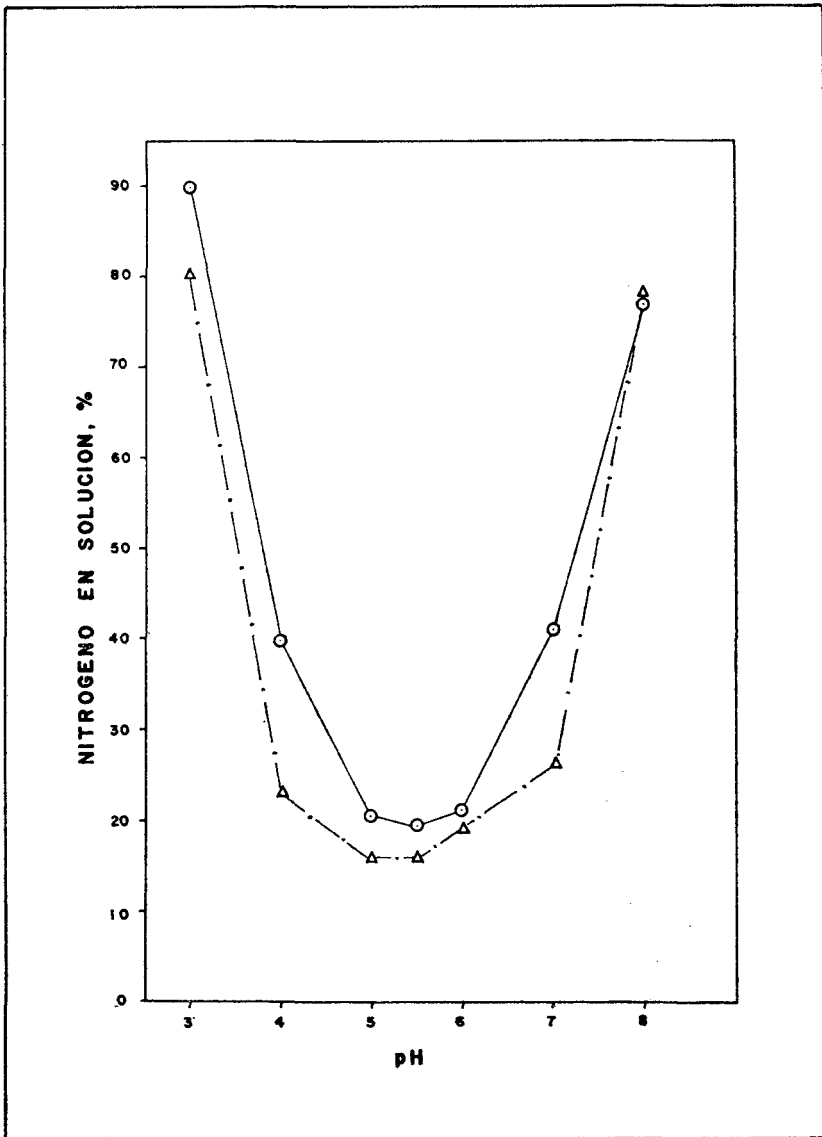


GRAFICA 8

Precipitación de proteína como función del pH y temperatura. Harina obtenida de un proceso de prensa de tornillo.

● - ● - ● 60°C

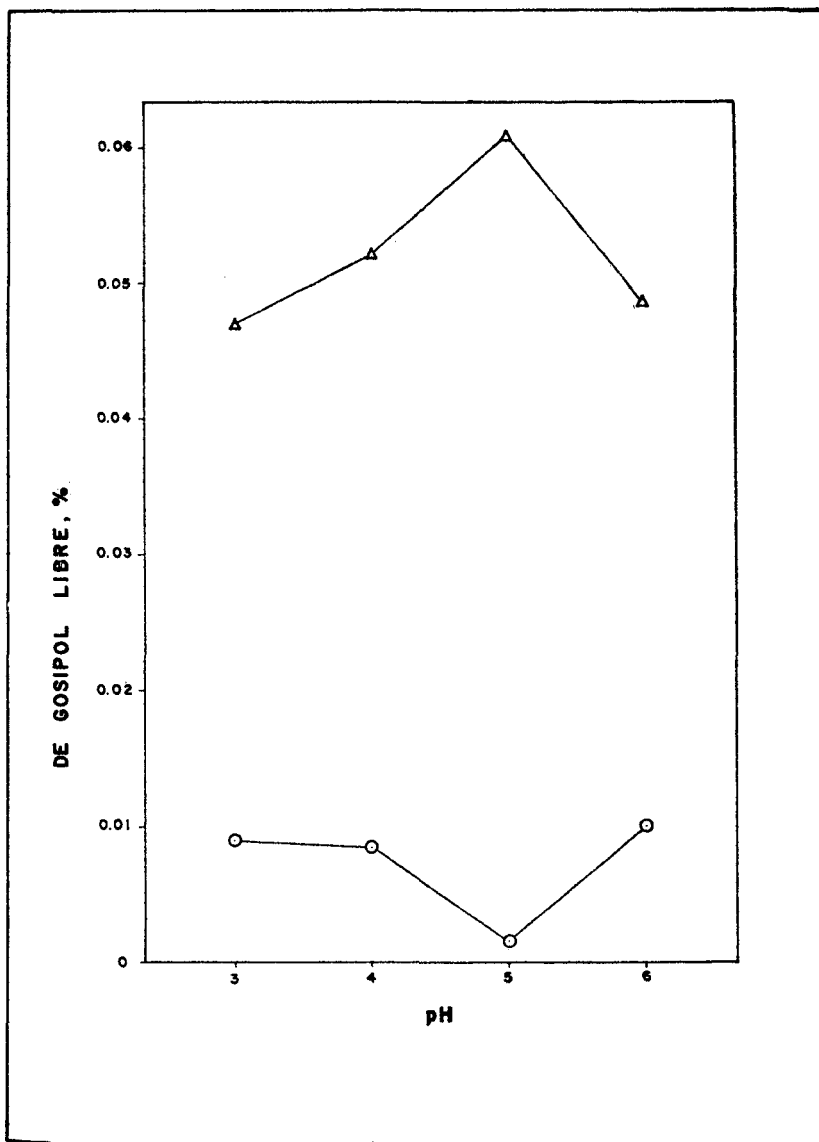
△ - △ - △ 25°C



GRAFICA 9

Distribución de gosipol libre como función del pH de precipitación

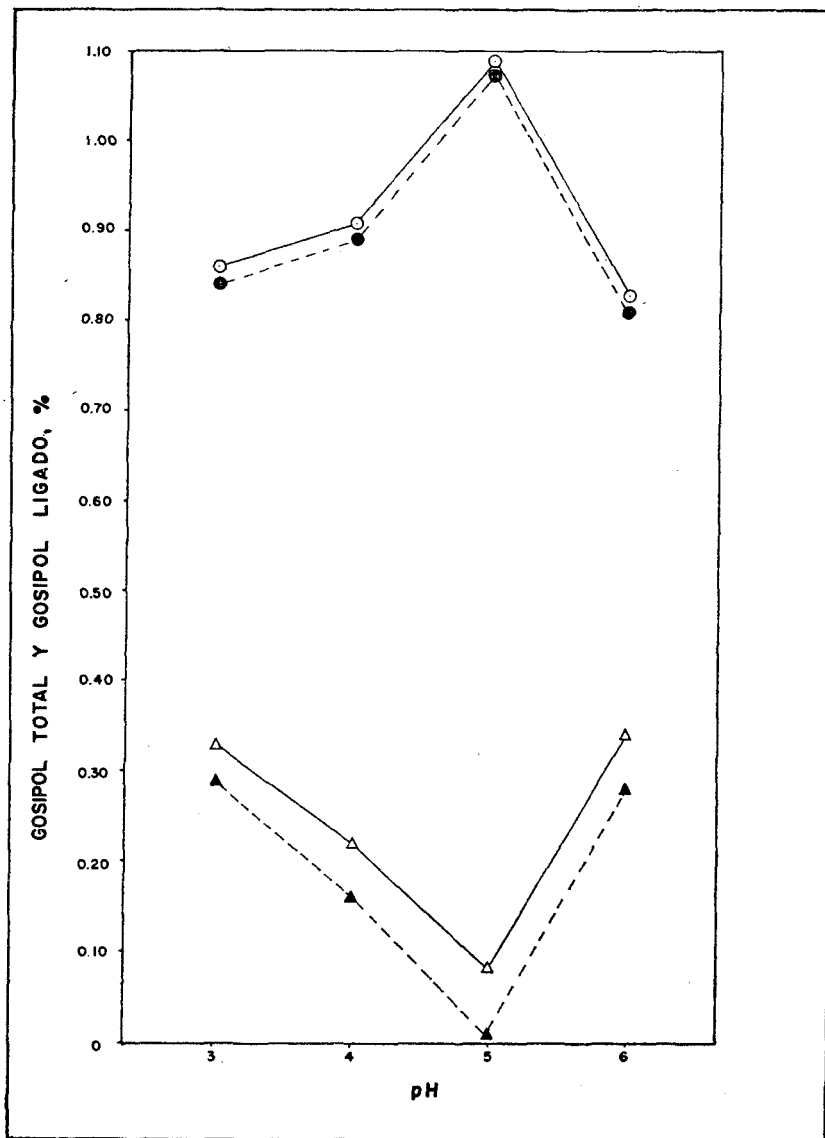
- - • - • Contenido de gosipol libre en precipitado
- △ - △ - △ Contenido de gosipol libre en sobrenadante



GRAFICA 10

Distribución de gosipol total y ligado como función del pH de precipitación.

- - - - • Contenido de gosipol total en precipitado
- - • - • Contenido de gosipol ligado en precipitado
- △ - - △ - △ Contenido de gosipol total en sobrenadante
- ▲ - - ▲ - ▲ Contenido de gosipol ligado en sobrenadante



1.2 *Relación harina-solvente*

Los resultados de esta experiencia se muestran en la Gráfica 4. Como se puede observar, la relación 1:100 (gramos de harina/mls de solvente), es la que permite alcanzar la máxima extracción protéica, en las dos temperaturas ensayadas. Sin embargo, esta relación no resulta ser práctica para efectuar extracciones con mayores cantidades de harina, debido al considerable volumen de líquido que sería necesario manipular. Tomando en cuenta este factor, se eligió la relación 1:20 como la más conveniente, y que ya a esta relación se logra extraer alrededor del 90% de la proteína que se extrae con la relación 1:100.

1.3 *Tiempo de extracción*

De acuerdo a los resultados obtenidos en estos experimentos (Gráfica 5), la cantidad absoluta de proteína extraída aumenta a medida que el tiempo de contacto se incrementa; esta tendencia se observa con todas las relaciones harina-solvente utilizadas. Como se puede observar, los primeros 20 minutos fueron suficientes para extraer gran parte de la proteína soluble (alrededor del 90% de la proteína extraída a 60 min); después de este tiempo, la cantidad de proteína extraída por unidad de tiempo, fue cada vez menor.

2. *pH de Precipitación*

De acuerdo a los resultados que se anotan en la Gráfica 6, la máxima precipitación de proteína a partir del extracto alcalino se obtuvo en el intervalo de pH comprendido entre 4 y 6, para todos los valores de temperatura de precipitación ensayados. Estos resultados coinciden con los reportados por Martínez (10, 11) y Berardi et al. (5), en un proceso de extracción con una sola etapa, aunque ellos nada reportan sobre la temperatura de precipitación. Al parecer el rango de pH de máxima precipitación es independiente del tipo de harina de algodón, tal como puede observarse en las Gráficas 6, 7 y 8, que sumarizan los resultados de precipitación, efectuados con harinas provenientes de tres procesos industriales de extracción de aceite diferentes.

El efecto de la temperatura sobre la cantidad de proteína precipitada tal como se anota en las Gráficas 6 y 8, es en el sentido de incrementar la cantidad precipitada cuando ésta descende la temperatura. Estos resultados no coinciden con

los reportados por Rolz et al. (14), quienes determinaron que a 60°C se obtenía una máxima precipitación, utilizando harina proveniente de un proceso de extracción del tipo prensa de tornillo. Probablemente esta discrepancia sea debida a los diferentes procedimientos utilizados. Específicamente, se cree que los análisis de proteína efectuados sobre el residuo húmedo, tal como los que ellos llevaron a cabo, son mucho más inexactos debido al alto contenido de humedad del precipitado. Por esta razón, se estima que los resultados aquí informados representan mejor el comportamiento de la proteína al variar el pH de la solución alcalina.

3. *Distribución de gosipol libre y total*

La distribución de gosipol contenido en el extracto alcalino, entre el precipitado y el líquido residual obtenidos a distintos valores de pH de precipitación, parece ser función de este parámetro, tal como puede observarse en las Gráficas 9 y 10. El valor de pH que tiende a minimizar el contenido de gosipol libre en el precipitado está alrededor de 5. Sin embargo, a este valor de pH, el contenido de gosipol total es máximo. Esto coincide con lo reportado por Rolz et al. (14) para 25°C como temperatura de precipitación; sin embargo, difiere del comportamiento observado por ellos a 60°C del gosipol libre y total en el precipitado, ya que de acuerdo a sus resultados tiende a ser mayor a lo largo del intervalo de pH investigado, aunque se mantiene la conducta respecto al pH.

De acuerdo a los resultados informados (Gráficas 9 y 10), alrededor del 95 - 99% del contenido de gosipol total del precipitado, es gosipol unido (gosipol total menos gosipol libre). Es bien conocido que el gosipol puede reaccionar, formando complejos, con gran cantidad de aminoácidos presentes en la proteína de algodón y con otros componentes de la harina (6), aunque nada, a juicio de los autores, ha sido reportado respecto a su solubilidad en soluciones alcalinas diluídas. Si el gosipol unido presente en el precipitado es gosipol que ha reaccionado con la proteína formando complejos proteína-gosipol, lo más probable sería que las curvas de precipitación de proteína y gosipol tuviesen la misma tendencia. Tal como puede observarse en la Gráfica 6, a pH 3 sólo precipitó del 35% de la proteína en solución, sin embargo, a este mismo valor de pH precipita arriba del 70% de gosipol unido. Esto parece indicar que: a) al menos la mayor parte de gosipol unido no es-

tá ligado a materiales protéicos, sino a otras sustancias capaces de precipitar a este nivel de pH; ó b) que el gosipol está ligado a diferentes fracciones de la proteína total, probablemente proteínas de distinto peso molecular, que precipitan de acuerdo al valor del pH. Lamentablemente esta observación no se puede generalizar a todos los niveles de pH investigados, dado que la mayor parte de los ensayos para determinar la distribución de gosipol, se efectuaron con valores de pH correspondientes al rango de máxima precipitación protéica.

4. Efecto del pH de precipitación sobre el contenido de proteína de diferente peso molecular en el precipitado

En el Cuadro 3 se muestran los resultados de los ensayos de fraccionamiento, efectuados sobre precipitados obtenidos a diferentes valores de pH. Como puede observarse, todos los precipitados presentan una concentración mayoritaria de proteínas de peso molecular mayor que 20.000. Estos resultados concuerdan con los obtenidos en los ensayos de extracción, en los cuales se determinó que la cantidad de proteínas de bajo peso molecular, solubles en agua, representan una fracción pequeña del total de la proteína soluble (8 - 13%).

CONCLUSIONES

1. Las condiciones óptimas de extracción y precipitación determinadas en este trabajo coinciden con las obtenidas por Berardi et al. (5) y Martínez (10, 11) y para un proceso de extracción de una etapa las condiciones encontradas son las siguientes:
 - Concentración de NaOH: 3 meq por gramo de harina
 - Relación harina-solvente: 1 - 20 (gramos de harina/ml solvente)
 - Tiempo de extracción: 20 minutos
 - pH de precipitación: comprendido entre 4 y 6.
2. La temperatura que maximiza la extracción de proteína está alrededor de 60°C
3. La cantidad de proteína precipitada es función de la temperatura. El valor de temperatura que permite precipitar la mayor cantidad de proteínas es 25°C
4. La distribución de gosipol entre el precipitado y el líquido residual, en la etapa de precipitación a partir de la solu-

CUADRO N° 3
EFFECTO DEL pH DE PRECIPITACION SOBRE EL CONTENIDO EN
PORCENTAJE, DE PROTEINA DE DIFERENTE PESO MOLECULAR
EN EL PRECIPITADO

Peso molecular	pH			
	3	4	5	6
107×10^3	0.38	0.56	3.10	23.31
> 107×10^3	86.05	1.24	0.36	74.96
80×10^3	2.07	50.22	76.23	0.0
33×10^3	0.0	0.0	5.37	0.0
25×10^3	0.0	7.49	2.23	0.0
18×10^3	9.61	11.27	3.23	1.39
9×10^3	0.42	11.33	4.83	0.0
5×10^3	0.34	17.89	4.65	0.34

ción protéica alcalina, es función del valor de pH de precipitación. A pH 5 se obtiene la máxima precipitación de gossipol total y la mínima para el gossipol libre

5. Las proteínas que precipitan a partir de la solución alcalina de proteína, están constituídas mayoritariamente por proteínas de peso molecular mayor de 20.000, independientemente del pH de precipitación.

SUMMARY

Wet concentration process for extraction and precipitation of protein from cottonseed.

As a continuation of earlier work reported in this journal (14) laboratory experiments were carried out in order to determine those conditions which permit extraction and precipitation of the greatest quantity of proteins from cottonseed by means of a wet concentration process. In addition, tests were performed to establish the distribution of gossipol and of proteins of different molecular weight as a function of the precipitation pH.

The results obtained indicate that the conditions which permit the greatest extraction of soluble protein are three milliequivalents of NaOH

per gram of flour in ratio 1:20 (grams of flour: ml of solvent) using an extraction time of 20 minutes at 60°C. The pH of greatest precipitation was located in a range of pH 4-6 at 25°C.

These results are in agreement with those reported by Berardi et al. (5) with the excretion to the precipitation temperature which Berardi did not mention.

It was determined that the distribution of gossypol is a function of pH, with the maximum precipitation of total gossypol and minimum precipitation of free gossypol at pH 5.

The data obtained in the experiments carried out to determine the distribution of the proteins shows that all of the precipitates formed at different pH levels contained principally proteins of a molecular weight greater than 20,000.

BIBLIOGRAFIA

1. Altschul, A. N., "Food: protein for humans", *Chem. Eng. News*, Nov. 24, p. 68 (1969).
2. American Oil Chemist's Society. "Official and tentative methods of the A. O. C. S.", 2nd. ed., rev. to 1961, Chicago, III., 1946 - 1969.
3. Andrews, P., "Estimation of the molecular weights of proteins by Sephadex gel-filtration", *Biochem. J.*, 91: 222-233 (1964).
4. Andrews, P., "Estimation of molecular size and molecular weights of biological compounds by gel-filtration", in *Methods of Biochemical Analysis*, 18, 1-53, (1970).
5. Berardi, L. C., W. H. Martínez and C. J. Fernández, "Cottonseed protein isolates: Two step extraction procedure", *Food Technol.* 23 (10), 75-82, (1969).
6. Cater, C. M. and C. M. Lyman, "Reaction of gossypol with amino acids and other amino compounds", *J. A. O. C. S.*, 46 (12), 649-653,
7. Instituto Centroamericano de Investigación y Tecnología Industrial (ICAITI), "Informe sobre la Industria de aceites y grasas en Centro América" (Tomos 1 y 2), Guatemala, (1969).
8. Lowry, O. H. et al., "Proteins measurement with the folin phenol reagent", *J. Biol. Chem.* 193, 265-275, (1951).
9. Lyman, C. M., W. Y. Chang, and J. R. Couch, "Evaluation of protein quality in cottonseed meals by chick growth and by a chemical index method" *J. Nutrition*, 49, 679-690, (1953).
10. Martínez, W. H., "Cottonseed proteins". *Proc. Cont. Cottonseed Protein Concentrates*. U. S. Dept. Agr., ARS72 - 38; 51-54 (1965).
11. Martínez, W. H., "Cottonseed protein isolates". *Proc. Cont. Protein rich Food Products from Oilseeds*. U. S. Dept. Agr., ARS72 - 71, 40-46, (1969).
12. Martínez, W. H., "Cottonseed protein concentrates by air classification". *Proc. Cont. Cottonseed Protein Concentrates*, U. S. Dept. Agr., ARS72 - 71, 33-39, (1969).
13. Pons, W. A., R. A. Pittman, and C. Hoffpouit, "3-amino-1-propanol as a complexing agent in the determination of total gossypol", *J.A.O.C.S.*, 35 (2), 93-97 (1958).
14. Rolz, C., et al. "Concentración protéica por vía húmeda de torta de semilla de algodón procesada por prensa de tornillo", *Arch. Latinoamer. Nutr.* 21 (4), 531-547, (1971).