

## **ESTABILIZACIÓN DEL SALVADO DE ARROZ COLOMBIANO MEDIANTE TRATAMIENTO ENZIMÁTICO (bromelina) PARA EVALUAR LA CONSERVACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS INSATURADOS Y ANTIOXIDANTES (TOCOFEROLES Y TOCOTRIENOS)**

Este estudio planteó el uso de la bromelina, proteasa presente en la piña, como medio para estabilizar el SA. Se realizó un diseño experimental de matriz 3x2x3, en donde las variables de proceso manejadas fueron la relación másica entre agua y SA (niveles de 3:1, 5:1 y 10:1), temperatura (18 °C y 40 °C) y el tiempo de almacenamiento (0, 15 y 30 días). El experimento consistió en realizar una mezcla de agua y salvado en las relaciones másicas propuestas más 0,15 g de enzima agitando el sistema durante 10 minutos para lograr homogeneidad. Finalmente, la muestra fue filtrada y secada hasta alcanzar una humedad de entre el 6 y 10% para luego almacenarla a condiciones ambientales y posteriormente analizarla en el tiempo establecido. Las variables de respuesta fueron la concentración de ácidos grasos libres insaturados (AGLI) y de antioxidantes (tocoferoles y tocotrienoles).

### **MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **Características del salvado de arroz**

Como materia prima se utilizó arroz paddy seco con una humedad del 12%, proveniente de las plantas de Villavicencio (Colombia). A partir de este se obtuvo el SA mediante un proceso de pulido realizado en el molino de arroz marca GRANEL dispuesto en la planta piloto de la Universidad Jorge Tadeo Lozano. Luego, el salvado se tamizó (Tamiz N° 20 ASTM) por 15 minutos hasta homogenizar la muestra y se almacenó a -20 °C en bolsas de plástico selladas herméticamente.

#### **Estabilización del salvado**

En el proceso de estabilización del SA se utilizó agua desionizada, proteasa (bromelina) del Centro Agrolécher (c-274301709, Colombia) con condiciones óptimas de pH de 5,0 a 8,0 y de temperatura entre 50 °C y 60 °C.

Para la cuantificación de AGLI, tocoferoles y tocotrienoles se emplearon estándares como ácido oléico, ácido linoléico, ácido linolénico,  $\alpha$ -tocoferol,  $\alpha$ -tocotrienol y  $\delta$ -tocotrienol (Sigma-Aldrich, Alemania). Para el análisis por cromatografía líquida de alta eficiencia se usaron solventes como metanol, acetonitrilo e isopropanol (casa matriz Merck). Para el análisis de las muestras se usaron los solventes hexano e isopropanol grado reactivo analítico (casa matriz Merck).

## **Diseño experimental**

Se empleó un diseño experimental de matriz 3x2x3. Como variables del diseño se consideraron la proporción másica agua-salvado en los niveles 3:1, 5:1 y 10:1, la temperatura en la etapa de mezclado en los niveles 18 °C y 40 °C y el tiempo de almacenamiento del salvado a 0, 15 y 30 días. Con el fin de determinar el efecto de la estabilización en las muestras tratadas, estas fueron comparadas con ejemplares que no se sometieron a ningún tipo de procesamiento (blancos), los cuales fueron almacenados bajo las mismas condiciones de temperatura, humedad y tiempo. Para cada tratamiento se realizaron 3 réplicas y en general se consideraron 9 blancos, para un total de 63 muestras analizadas. A cada réplica se le hizo un seguimiento de pH y humedad durante el proceso de estabilización.

Para cuantificar el efecto que presentaba cada una de las variables de proceso sobre la estabilización del SA, se plantearon dos variables de respuesta: la primera es la cuantificación de los AGLI y la segunda corresponde a la cuantificación de los antioxidantes (tocoferoles y tocotrienoles).

## **Procedimiento experimental**

En el proceso de estabilización se tomaron 150 g de SA para cada muestra y se mezclaron con agua en relación másica 3:1, 5:1 y 10:1; a cada una de estas mezclas se les adicionó un 0,1% de bromelina con respecto al peso del salvado (Hammond, 1998), lo que equivale en este caso a 0,15 g. Cada muestra se mezcló con un agitador durante diez minutos a velocidad constante para asegurar su homogeneidad. El proceso de mezclado se realizó bajo dos condiciones: temperatura ambiente (18 °C) y 40 °C; para esta última, se aseguró que la temperatura se mantuviera constante por medio de un baño termostático. Luego del proceso de agitación, la mezcla se filtró usando una seda. Inmediatamente, las muestras fueron introducidas en un secador de convección forzada marca MLW a 40 °C hasta alcanzar una humedad de entre el 6% y el 10% (Hammond, 1994). Las muestras estabilizadas, se almacenaron en bandejas de aluminio y se dejaron expuestas al ambiente. Los tiempos de recolección para análisis de AGLI y antioxidantes fueron 0, 15 y 30 días.

## **Análisis de muestras**

### **Extracción de aceite del salvado de arroz estabilizado**

La extracción de aceite crudo de SA se llevó a cabo como se describe en el capítulo 1, gráfica 2.

### **Separación y cuantificación de ácidos grasos insaturados libres y totales del aceite extraído del salvado de arroz estabilizado**

La metodología para la separación de ácidos grasos insaturados libres se explica en la metodología expuesta en el capítulo 1, gráfica 5 y la de totales se presenta en el mismo capítulo en la gráfica 4.

La cuantificación de los de ácidos grasos insaturados libres (oléico, linoléico y linolénico) por HPLC se realizó bajo las condiciones descritas en el capítulo 1 expuestas en “Condiciones cromatográficas II para cuantificación de ácidos grasos insaturados (oléico, linoléico y linolénico) libres y totales”.

### **Separación y cuantificación de tocoferoles y tocotrienoles del aceite extraído del salvado de arroz estabilizado**

La metodología para la separación de tocoferoles y tocotrienoles se explica en la metodología expuesta en el capítulo 1, gráfica 3.

La cuantificación de los tocoferoles y tocotrienoles por HPLC se realizó bajo las condiciones descritas en el capítulo 1 expuestas en “Condiciones cromatográficas II para cuantificación de tocoferoles, tocotrienoles y  $\gamma$ -orizanol”.

### **Cálculo de las concentraciones de los componentes funcionales**

Para la cuantificación de cada uno de los componentes funcionales se utilizó una curva de calibración especificada por área (mV min) vs Concentración ( $\mu\text{g/ml}$ ), esta arrojó una ecuación de la curva permitiendo el cálculo de la concentración del compuesto de interés por interpolación de esta área.

Posteriormente se empleó la Ecuación (5) para la obtención de la concentración del componente de interés en 100 gramos de SA (bs).

**Nota.** Los resultados para el gamma-orizanol no se tuvieron en cuenta, puesto que las cantidades obtenidas a través del tiempo para todas las muestras no mostraron una tendencia lógica con la cual se pudiera dar un análisis acertado.

### **Análisis estadístico**

Al promedio de las 3 réplicas de cada punto experimental se determinó la desviación estándar y el coeficiente de variación. Posteriormente se verificó la normalidad de los datos para cada una de las variables de respuesta, lo que llevó a realizar un análisis de varianza ANOVA con el fin de medir la influencia que tuvieron las variables del proceso sobre los resultados. Por último, se realizó el test de Duncan con el propósito de

evaluar las diferencias entre las variables. Para cada uno de estos análisis se utilizó el software Statgraphics® Plus versión 5.0.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Características del proceso de estabilización

Dentro del proceso de estabilización del SA se midió el pH en la mezcla y la humedad luego del proceso de filtración. La medición del pH durante la estabilización tuvo como fin corroborar que la mezcla de agua, salvado y proteasa cumpliera con las condiciones óptimas de actividad proteolítica de la bromelina (5.0 a 8.0). Por otro lado, la medición de humedad se llevó a cabo para comparar si correspondía al valor al cual se comercializan las harinas ( $\pm 6-10\%$ ).

Los valores de pH registrados tuvieron un promedio de  $6,87 \pm 0,32$ . Para el caso de la humedad en los tratamientos 3:1 y 5:1 se obtuvo una media de  $67,80\% \pm 2,62$  y en el tratamiento 10:1 el valor promedio fue de  $74,26\% \pm 2,76$ . A partir de estos resultados se hace necesario someter la muestra a un proceso de secado, el tiempo registrado para alcanzar una humedad entre 6 y 10% fue de 10 horas.

### Ácidos grasos libres insaturados totales (AGLIT)

Los resultados se reportan como ácidos grasos libres insaturados totales (AGLIT) que representan la suma en gramos de los ácidos oléico, linoléico y linolénico cuantificados por cada 100 gramos de SA base seca.

En la tabla 49 se muestran los resultados para el análisis de varianza de los AGLIT luego de verificar la normalidad de los datos experimentales.

**Tabla 49.** Resultados de la ANOVA para ácidos libres insaturados totales

Variable	Valor P*
Temperatura	0,7413
Relación agua-SA	0,0000
Tiempo	0,0000

\*Menor a 0,05 indica que esta variable tiene un efecto estadísticamente significativo sobre los AGLIT, con una confianza del 95%.

El análisis de varianza permite apreciar el efecto de cada una de las variables de proceso sobre la estabilización del SA a partir del cual se puede concluir que la

temperatura no presentó un efecto estadísticamente significativo ( $p > 0.05$ ) en la liberación de AGLIT. Caso contrario ocurrió con la relación agua-salvado y el tiempo, los cuales sí presentan efectos estadísticamente significativos ( $p < 0.05$ ) sobre la concentración de los AGLIT.

En la tabla 50 se muestran los resultados del test de Duncan para los AGLIT.

**Tabla 50.** Test de Duncan para AGLIT a 0 y a 30 días.

Variable	Niveles	Diferencias entre niveles
Temperatura (°C)	18– 40	X
Proporción agua -salvado	3:1 - 5:1	X
	3:1 - 10:1	
	5:1 - 10:1	
Tiempo (días)	0 - 15	
	0 - 30	
	15 - 30	

\*Los niveles de cada tratamiento que presentan diferencias son representados por un guión (-).

A partir de este análisis estadístico se confirmó que cada nivel de relación másica de agua-salvado utilizado en el proceso de estabilización tuvo un efecto diferente sobre la liberación de los AGLIT. El tiempo mostró igualmente diferencias entre los 3 niveles lo que ratifica una inestabilidad de los AGLIT de cero a los 30 días. En el caso de la temperatura se observa que no hubo diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos a 18 y 40 °C ni efecto de estos sobre los AGLIT.

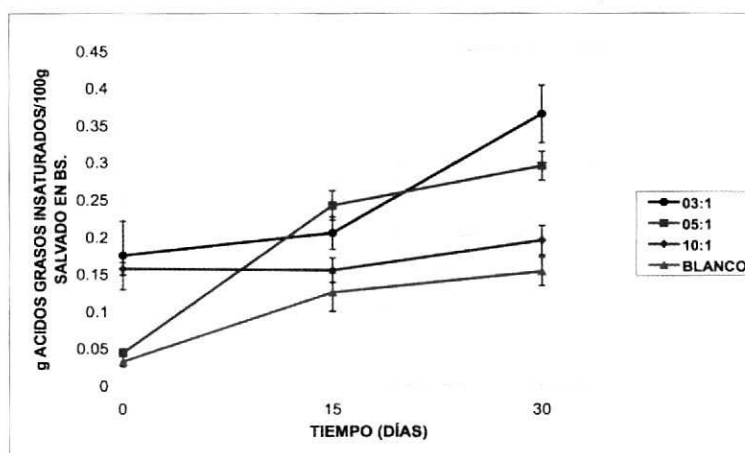
Debido a que los resultados de AGLIT analizados a partir de la variable temperatura no presentaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos a 18 y 40 °C, se puede inferir que la actividad proteolítica de la bromelina no fue eficiente bajo las condiciones de temperatura empleadas. Teniendo en cuenta que esta enzima tiene un óptimo rango de temperatura entre 50 y 60 °C, se presume que aunque haya presentado una actividad proteolítica sobre la estabilización del SA su efecto a bajos rangos de temperatura no se logra diferenciar.

No fue posible alcanzar un valor de temperatura por encima de 50 °C ya que esta variable ejerce una importante influencia sobre la degradación de los antioxidantes presentes en el salvado. Por tal razón, cada uno de los tratamientos se realizó de manera controlada con el fin de que no se produjera pérdida de los tocoferoles y tocotrienoles ya que en la bibliografía consultada se especifica que estos son compuestos que presentan una destrucción acelerada debido al calor con pérdidas de cerca del 50%

en procesos como la cocción de pan (Moore *et al.*, 1957). Otro estudio indicó grandes rangos de destrucción de los tocoferoles con pérdidas de un 90% a 58 y 98 °C (Hove & Hove, 1944).

Al no observar diferencias estadísticamente significativas entre los resultados de esta variable se decidió graficar los datos experimentales correspondientes a 18 °C. Es importante señalar que bajo esta condición de temperatura, no se requiere que el agua sea precalentada a 40 °C ni tampoco son necesarios procesos alternos para mantener esta condición durante la preparación de la mezcla, lo que indica menores costos tanto de operación como de logística del proceso.

En la gráfica 41 se muestran los resultados experimentales de la concentración de los AGLIT, para cada uno de los tratamientos analizados y el blanco.



**Gráfica 41.** Valores experimentales de la concentración de AGLIT para el blanco y los tratamientos sometidos a 18 °C en el tiempo de 0 a 30 días.

Las tendencias analizadas en la gráfica 41 muestran que los tratamientos empleados para la estabilización del salvado generaron una mayor liberación de AGLIT con respecto al blanco, esto indica que posiblemente aceleraron los procesos de hidrólisis de los triglicéridos mediados por las lipasas presentes en el SA.

Los tratamientos 3:1 y 10:1 presentan concentraciones iniciales superiores al blanco en el tiempo 0, lo que indica que el proceso de estabilización tuvo una influencia sobre la degradación de los AGLIT. Lo contrario ocurrió en el tratamiento 5:1 cuya concentración inicial de AGLIT fue cercana a la muestra patrón, indicando que no hubo un efecto externo sobre ésta. A los 15 días se muestra cómo todos los tratamientos, excepto 10:1, presentan diferencias en sus concentraciones de AGLIT con respecto al blanco observándose que los tratamientos causaron una mayor liberación de los ácidos. Para los 30 días todos los tratamientos mostraron diferencias en su concentración con respecto al blanco lo que indica que tuvieron una mayor degradación de los triglicéridos.

Estudiando las variables de proceso, en la anterior gráfica se puede observar que a menor relación másica de agua-salvado existe una mayor liberación de AGLIT a los 30 días. Cabe resaltar el tratamiento 10:1 con un comportamiento que tiende a ser constante en el tiempo mostrando tan solo un incremento de su concentración inicial con respecto a la final del 24%; seguido del tratamiento 3:1 que a pesar de presentar la mayor concentración final de AGLIT tuvo un porcentaje menor de liberación de los ácidos grasos en el tiempo con respecto a 5:1 que aunque partió con una concentración igual al del blanco tuvo una liberación de ácidos mayor de los 0 a 15 días. En el caso del blanco, a pesar de tener la menor concentración de AGLIT a través del tiempo, presenta un porcentaje de liberación mayor con respecto a 10:1 lo que indica que este último presenta el mejor comportamiento en el estudio realizado.

Debido a que la bromelina es una proteasa de carácter hidrofílico, su efecto en la disminución de la acción lipolítica presente en el SA sobresalió en las muestras con altas proporciones de agua. Este efecto se originó porque el agua, además de servir como sustrato, sirvió como difusor para que existiera una mayor interacción entre las lipasas y proteasas de la mezcla lo cual se evidenció en el tratamiento 10:1 (ONUDI, 1987).

La baja efectividad de la bromelina en los procesos de estabilización enzimáticos para los AGLIT pudo también ser debida a su baja concentración respecto a las cantidades de agua-salvado manejados en la mezcla. Se presume que otro factor que pudo haber intervenido en la actividad de la enzima comercial usada, fue que esta se extrajo de los tallos de la piña (Centro Agrolécher C-274301709) los cuales presentan menor acción proteolítica con respecto a la enzima obtenida de la pulpa y el corazón de la fruta (Gallardo *et al.*, 2008; López *et al.*, 1996). Por lo tanto, se abre así un camino para posteriores estudios con enzimas de alta actividad manejadas a mayores concentraciones.

### Antioxidantes (tocoferoles y tocotrienoles)

Los resultados se reportan como gramos de tocoferoles o tocotrienoles cuantificados por cada 100 gramos de SA base seca.

En la tabla 51 se muestra el efecto que adoptaron las variables de proceso sobre la concentración de los tocoferoles. Para realizar el análisis estadístico se verificó que los datos experimentales fueran normales.

**Tabla 51.** Resultados de la ANOVA para tocoferoles.

Variable	Valor P*
Temperatura	0,2356
Relación agua-SA	0,0000
Tiempo	0,0000

\*Menor a 0,05 indica que esta variable tiene un efecto estadísticamente significativo sobre los AGLIT, con una confianza del 95%.

Como se evidencia, la temperatura no tuvo un efecto estadísticamente significativo ( $p > 0,05$ ) sobre la degradación de los tocoferoles en el tiempo. Caso contrario ocurrió con la relación -agua salvado y el tiempo, teniendo ambos un alto efecto en la pérdida de los antioxidantes presentes en el salvado con un valor p de cero (0).

En la tabla 52 se muestran los resultados del test de Duncan para la concentración de tocoferoles.

**Tabla 52.** Test de Duncan para tocoferoles a 0 y a 30 días.

Variable	Niveles	Diferencias entre niveles
Temperatura (°C)	18 - 40	
Proporción agua -salvado	3:1 - 5:1	
	3:1 - 10:1	-
	5:1 - 10:1	-
Tiempo (días)	0 - 15	-
	0 - 30	-
	15 - 30	-

\*Los niveles de cada tratamiento que presentan diferencias son representados por un guión (-).

Se observa que los tratamientos 3:1 y 5:1 no presentaron diferencias entre sí, por lo cual, su comportamiento presentó la misma tendencia y por ende el mismo grado de degradación de los tocoferoles. No obstante, las demás proporciones de agua sí presentaron una diferencia sobre la variable de respuesta. Por otro lado, las dos temperaturas no presentaron diferencia en los valores de concentración de tocoferoles por lo cual se puede concluir que no tuvieron efecto sobre la degradación de estos compuestos funcionales. Finalmente, se observa que el tiempo tuvo diferencias entre sus niveles indicando que no hubo una estabilidad de los tocoferoles durante el almacenamiento.

En la tabla 53 se muestra el efecto que generaron las variables de proceso sobre la concentración de tocotrienoles. Para realizar este análisis primero se verificó la normalidad de los datos.

**Tabla 53.** Resultados de la ANOVA para tocotrienoles.

Variable	Valor P*
Temperatura	0,2080
Relación agua-SA	0,0000
Tiempo	0,0000

\*Menor a 0,05 indica que esta variable tiene un efecto estadísticamente significativo sobre los AGLIT, con una confianza del 95%.

Como se observa, la temperatura no presentó un efecto estadísticamente significativo ( $p > 0,05$ ) sobre la degradación de los tocotrienoles en cada uno de los tratamientos. Sin embargo, la relación agua-salvado y tiempo muestran efectos estadísticamente significativos lo que indica que estas variables de proceso aportaron para que el SA no se mantuviera estable.

La tabla 54 muestra el test de Duncan para la concentración de tocotrienoles.

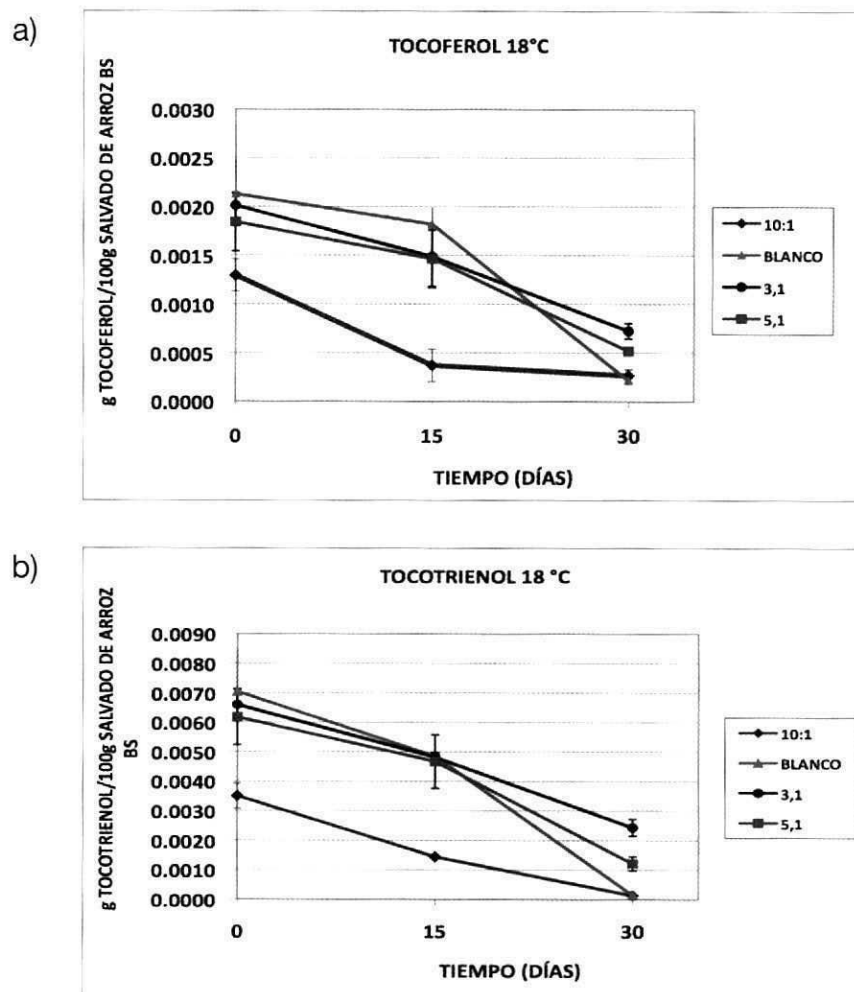
**Tabla 54.** Test de Duncan para tocotrienoles a 0 y a 30 días.

Variable	Niveles	Diferencias entre niveles
Temperatura (°C)	18 – 40	
Proporción agua -salvado	3:1 – 5:1	-
	3:1 – 10:1	-
	5:1 – 10:1	-
Tiempo (días)	0 – 15	-
	0 – 30	-
	15 - 30	-

\*Los niveles de cada tratamiento que presentan diferencias son representados por un guión (-).

Se puede observar que los tratamientos 3:1, 5:1 y 10:1 tuvieron diferencias entre sí, dejando claro que cada uno tuvo un efecto diferente sobre la concentración de tocotrienoles a través del tiempo. En el caso de la temperatura se observa que las dos condiciones manejadas durante la estabilización presentaron el mismo efecto sobre la variable de respuesta. Respecto al tiempo se puede concluir que no hubo una estabilidad de los componentes funcionales del salvado de los cero (0) a los 30 días.

En la gráfica 42 se muestran los datos obtenidos para la concentración de antioxidantes (tocotrienoles y tocoferoles). Las gráficas se realizaron bajo esta condición de temperatura debido a que el análisis estadístico no mostró diferencias con los tratamientos a 40 °C por lo cual se asume que se comportaron de la misma forma.



**Grafica 42.** Cuantificación de antioxidantes presentes en el blanco y los tratamientos sometidos a 18 °C en el tiempo de cero (0) a 30 días. a) Tocoferoles b) Tocotrienoles.

Al analizar las tendencias de los tratamientos mostrados en la gráfica 42 a, se observa que la proporción agua-salvado 10:1 es la relación másica que muestra mayor degradación de los tocoferoles con respecto al blanco de los cero a los 15 días. Para los 30 días se observa que no hubo diferencias presentando ambos una concentración cercana, es decir, que a pesar de tener comportamientos diferentes llegaron al mismo grado de degradación de tocoferoles. En los tratamientos 3:1 y 5:1 se observa que no hubo diferencias significativas con respecto al blanco, por lo que se puede asumir que tuvieron el mismo comportamiento hasta los 15 días, sin embargo, a los 30 días estos muestran concentraciones superiores de tocoferoles indicando que al final hubo una conservación de estos componentes.

En la gráfica 42 b, se muestran los datos obtenidos en la concentración de tocotrienoles, en donde se observan tendencias similares a las analizadas para tocoferoles. En general, se ve que a mayores proporciones de agua existe una mayor degradación

de los compuestos antioxidantes, caso contrario ocurrido con los AGLIT. En los tratamientos 3:1 y 5:1 no se mostraron diferencias en la concentración de tocoferoles y tocotrienoles con respecto al blanco en el tiempo de cero (0) a 15 días lo que indica que estos presentaron el mismo comportamiento.

Los tocoferoles y tocotrienoles, al presentar tendencias similares y por ser parte de los antioxidantes constituyentes de la vitamina E, pueden ser analizados en conjunto. En general, se evidenció que la relación agua-salvado presentó un efecto negativo sobre la conservación de estos compuestos por lo cual se presume que el agua generó un efecto facilitador en la degradación de los antioxidantes. En un estudio consultado se comprobó que la pérdida de los tocoferoles y tocotrienoles depende de la actividad de agua, en donde a una mayor actividad acuosa ocurre una mayor velocidad de degradación (Eitenmiller, 2004). Esto se evidencia en la muestra 10:1 con la mayor rapidez de pérdida de los antioxidantes del SA.

Para realizar un análisis comparativo de la acción proteolítica que presentan las proteasas naturales sobre el SA, es necesario remitirnos a Álvarez (2010), quien realizó un proceso de estabilización con una enzima extraída de la papaya (papaína), en donde obtuvo una liberación de AGLIT de los cero (0) a los 30 días para todos los tratamientos superando la concentración del blanco, lo que indica que la acción de la papaína tampoco tuvo efecto sobre la estabilidad del salvado. Sin embargo, al comparar los resultados obtenidos con la bromelina para el tratamiento 10:1, este tuvo un comportamiento constante con concentración final de 0,19 g AGLIT/100 g salvado, lo que no se evidenció con la papaína en el mismo tratamiento presentando una tendencia constante hasta los 15 días y con una cantidad final de AGLIT de 0.2974 g/100 g salvado a los 30 días; indicando así que la efectividad de la bromelina fue mayor en la conservación de los AGLIT para la relación másica 10:1.

En la tabla 54, se observan los valores para la concentración de AGLIT en los procesos de estabilización enzimática del SA mediante el uso de papaína y bromelina.

**Tabla 54.** Valores experimentales de AGLIT para el proceso de estabilización de salvado con papaína y bromelina de cero (0) a 30 días.

Relación másica entre agua y salvado	Tiempo	Bromelina	Papaína
		AGLIT	AGLIT
3:1	0	0.1742	0.0451
3:1	15	0.2045	0.2641
3:1	30	0.3645	0.2997
5:1	0	0.0432	0.0667
5:1	15	0.2414	0.2092
5:1	30	0.2945	0.3120
10:1	0	0.1563	0.1178
10:1	15	0.1543	0.1256
10:1	30	0.1945	0.2974

Álvarez (2010) encontró un comportamiento constante en la concentración de los antioxidantes para todos los tratamientos hasta los 15 días; este comportamiento no se evidenció en el estudio realizado con bromelina, ya que hubo una degradación mayor y continua de los antioxidantes a través del tiempo.

## CONCLUSIONES

La temperatura manejada en cada uno de los tratamientos de estabilización no presentó ningún efecto sobre la concentración de los ácidos grasos libres insaturados totales y antioxidantes (tocoferoles y tocotrienoles) presentes en el SA.

Se evidenció que a mayor concentración de agua presente en la mezcla se genera una menor liberación de AGLIT. A pesar de esto, se provoca un aumento en la degradación de los tocoferoles y tocotrienoles presentes en el salvado.

El tratamiento 10:1 mostró el mejor comportamiento del estudio sobre la liberación de AGLIT con tan solo un incremento de su concentración inicial con respecto a la final del 24%.

La bromelina bajo las condiciones de proceso temperatura y relaciones másicas de agua y salvado no presentó un efecto estabilizador sobre los antioxidantes y AGLIT presentes en el SA.

## Referencias bibliográficas

- Álvarez, D. 2010. Estabilización del SA mediante el uso de una enzima proteolítica (papaína). Universidad Jorge Tadeo Lozano. Facultad de Ingeniería de Alimentos. Bogotá.
- Da Silva M, Sánchez C, Amante E. 2006. Prevention of hydrolytic rancidity in rice bran. *Journal of Food Engineering* 75:487-491.
- Eitenmiller, R., Lee, J. 2004. Vitamin E: Food Chemistry, Composition and Analysis. Marcel Dekker, Inc. United States.
- Frankel, E. 1984. Lipid oxidation: Mechanisms, Products and Biological Significance. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 61:1908-1917.
- Funatsu, M., Aizono, Y., Hayashi, K., Watanabe, M., Eto, M. 1971. Biochemical studies on rice bran lipase. Part I: Purification and Physical Properties. *Agricultural and Biological Chemistry*. 35:734-742.
- Gallardo, L., Sánchez, A., Montalvo, C., Alonso, A. 2008. Extracción de bromelina a partir de residuos de piña. *Ciencia y Tecnología de Alimentos*. 18:1- 4.

- Gil, H; Mata Segreda, J; Schowen, R. 1991. Efecto de la glucación no enzimática en la reactividad en proteolisis. *Acta Cient. Venez*; 42:16-23.
- Guzmán, J. 2010. Estabilización del SA colombiano para evaluar la conservación de ácidos grasos insaturados y antioxidantes (tocoferoles y tocotrienoles) Universidad Jorge Tadeo Lozano. Facultad de Ingeniería de Alimentos. Bogotá.
- Hammond, N.A. 1994. Method for stabilizing rice bran and rice bran products. US Patent number: 5,753.283.
- Headon D, Walsh G. 1994. The industrial production of enzymes. *Biotechnology Advance*. 12 (4):635-46.
- Hernández M, Chávez M, Báez R, Carvajal C, Márquez M, Morris H, Santos R, González J, Quesada V, Rodríguez C. 2003. Nueva tecnología para la obtención de un preparado de bromelina de tallo de piña (*Ananas comosus* (L.) Merr) *Biotecnología Aplicada*. 20: 180-183.
- Hove, E.L.; Hove, Z. 1944. The effect of temperature on the relative antioxidant activity of  $\alpha$ -,  $\beta$ -, and  $\gamma$ -tocopherols and of gossypol. *J. Biol. Chem.*, 156:623-632.
- Hu, W., Wells, J., Shin, T., Godber, J. 1996. Comparison of isopropanol and hexane for extraction of Vitamin E and Oryzanols from stabilized rice bran. *Journal of the American Oil Chemists Society*. 73:1653-1656.
- Hurtado, B.R. 1989. Efecto de la hidrólisis con Bromelina y la proteasa del *Aspergillus oryzae* sobre las propiedades funcionales de la harina desacascarada de ajonjolí. Venezuela. 109 p.
- Juliano, O. B. 1994. *Rice: Chemistry and Technology*. 2<sup>nd</sup> ed. St. Paul, EUA: The American association of Cereal Chemist's inc. 774 p.
- Kennedy, G., Burlingame, B. 2003. Analysis of food composition data on rice a plant genetic resources perspective. *Food Chemistry*. 80:589-596.
- López L, Díaz J, Merino de Cáceres F. 1996. La bromelina una proteasa de interés comercial. *Ciencia y tecnología alimentaria*. México .1:17-22
- Martínez H, Acevedo X. 2002. Características y estructura de la cadena de arroz en Colombia, documento de trabajo n° 11. Observatorio Agrocadenas.
- Moore, T., Sharman, J.M., Ward, R.J. 1957. Destruction of vitamin E in flour by chlorine dioxide. *Journal of Science and Food Agriculture*. 8:97
- Morris H, Almarales A, Abdala R. 1998. Influencia del tratamiento de la biomasa y la naturaleza de las enzimas proteolíticas en la hidrólisis de las proteínas de *Chlorella vulgaris*. División de Biotecnología Solar, Santiago de Cuba. 10:59-67.
- Observatorio Agrocadenas, 2005. *Agroindustria y competitividad. Estructura y dinámica en Colombia 1992- 2005*. Ministerio Agricultura y Desarrollo Rural. 369 p.

- Observatorio Agrocadenas. 2004. La competitividad de las cadenas agroproductivas en Colombia, Análisis de su estructura (1991-2004). Ministerio de Agricultura y Desarrollo rural.
- Organización de las Naciones Unidas para el Desarrollo Industrial. 1987. El SA, una materia prima subutilizada. Viena. 262 p.
- Parra, D. 2009. Estabilización ácida del SA inhibiendo la acción de lipasas y peroxidasas para conservar su calidad funcional. Universidad Jorge Tadeo Lozano. Facultad de Ingeniería de Alimentos. Bogotá
- Parrado J, Miramontes E, Jover M, Gutiérrez J, Collantes de Terán L, Bautista J. 2006. Preparation of a rice bran enzymatic extract with potential use as functional food, Food Chemistry 98 742-748.
- Prakash, J., & Ramanatham, G. Physico-chemical and nutritional traits of rice bran protein concentrate-based weaning foods. 1999. Journal of Food Science and Technology, 32(5):395-399.
- Prakash, J. 1996. Rice bran proteins: properties and food uses. Critical Review of Food Science Nutrition, 36 (6):537-552.,
- Rogers, E., Rice, S., Nicolosi, R., Carpenter, E., McClelland, C., Romanczyk, L. 1993. Identification and quantitation of  $\gamma$ -oryzanol components and simultaneous assessment of tocopherols in rice bran oil. Journal of the American Oil Chemists Society. 70:301-307.
- Vercet, A., Oria, R., Crelier, S., López, P. 2002. Selective inactivation of phospholipase A2 in complex protein mixtures. Innovative Food Science and Emerging Technologies. 3:271-277.