



Universidad Autónoma de San Luis Potosí

ESCUELA DE CIENCIAS QUIMICAS

OBTENCION DE PROTEINAS EN HOJAS DE
PLANTAS.

Trabajo Recepcional

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICO FARMACOBIOLOGO

P R E S E N T A :

Ma. Guadalupe Zapata Villanueva

OK98
.5
.A1
23
c.1



1080075057



Universidad Autónoma de San Luis Potosí

ESCUELA DE CIENCIAS QUIMICAS

**OBTENCION DE PROTEINAS EN HOJAS DE
PLANTAS.**

Trabajo Recepcional

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICO FARMACOBIOLOGO

P R E S E N T A :

Ma. Guadalupe Zapata Villanueva

SAN LUIS POTOSI, S. L. P.

JUNIO DE 1980

X
QK98
S
A
M
N



CON AGRADECIMIENTO A MIS PADRES:

SR. SIXTO ZAPATA M. Y
SRA. FELICITAS V. DE ZAPATA.

A MI ESPOSO:

JOSE GUSTAVO BARCENAS DAVALOS.

QUIENES ME HAN BRINDADO SU CARIÑO QUE FUE EL PRINCIPAL APOYO
EN LA REALIZACION DE MI CARRERA.

CON AGRADECIMIENTO Y RESPETO
A MIS MAESTROS.

A MIS COMPAÑEROS Y AMIGOS
QUIENES RECUERDO CON APRECIO

CON AGRADECIMIENTO AL SR.

ING. GONZALO HERNANDEZ R.

POR SU ASESORIA EN ESTRE TRABAJO.

A LA EMPRESA "PRODUCTOS DOÑA MARIA, S. A.

AHORA "HERDEZ, S. A." PLANTA SAN LUIS Y

A: Q.F.B. SRA. CELIA V. DE GARCIA Y AL -

SR. ING. GERARDO PALOS.

C O N T E N I D O

- I.- INTRODUCCION
- II.- MATERIALES Y METODOS
- III.- RESULTADOS
- IV.- CONCLUSION
- V.- BIBLIOGRAFIA

I N T R O D U C C I O N

En los últimos 10 años el incremento en la disponibilidad de proteínas ha aumentado, pero esto no ha sido suficiente en relación al incremento de población, más que nada se debe a que aún la proteína comercial es costosa y por otra parte la disponibilidad en países subadministrados es muy baja, dando como consecuencia lógica una dieta pobre, causando con todo esto, desnutrición en la población infantil del área rural y gran parte de ellos en el área urbana.

Es por eso que la industria alimentaria día a día busca nuevas fuentes proteicas, lo que nos ha llevado a estudiar un método de extracción sencillo y económico al alcance de los trabajadores rurales.

El presente trabajo ha sido efectuado con miras a resolver dicho problema, encontrando en las hojas verdes la principal fuente de proteínas en el mundo entero, habiendo en la actualidad aproximadamente 300,000 variedades diferentes, de las que tan solo 30 a 40 son empleadas en alimentación humana y de éstas su utilización es parcial, por esto resulta evidente la necesidad de desarrollar métodos mediante los cuales se logre la producción de concentrados proteicos de hojas que a manera de harinas o pastas pueden ser incorporadas a la alimentación diaria tanto humana como en animales domésticos.

Las plantas aprovechables y que por su fácil consumo diario se han escogido para elaborar este trabajo son: zanahoria, beta - bel, cebolla, rábano y zacate (diversas variedades)

De éstas basaremos nuestro estudio en las hojas que actualmente poco se emplean, tomando en cuenta el nivel económico, social y cultural en el campo, se ha diseñado este procedimiento rústico para extraer las proteínas de las hojas que complemente el aprovechamiento de las hojas en tiempo de cosecha y poder preparar concentrados proteícos que nos ayuden al enriquecimiento de la dieta del campesino, sobre todo en las épocas difíciles durante el invierno.

M A T E R I A L

El material utilizado para elaborar este trabajo, fué el siguiente:

A).- MATERIA PRIMA

Se emplearon las hojas de:

Betabel (Beta Vulgaris-lavar-Rapacia)
Cebolla (Allium Cepa-L.V.)
Rábano (Radicula Armoracia)
Zacate (Diversas variedades)
Zanahoria (Daucus Carota)

B).- REACTIVOS

1. Acido Clorhídrico fumante
2. Acetato neutro de plomo
3. Agua clorhídrica
4. Agar count plate
5. Agar EMB
6. Agar Sabourad
7. Anaranjado de metilo
8. Acido sulfúrico concentrado
9. Agar verde brillante
10. Eter
11. Hidroxido de sodio en lentejas
12. Hidroxido de sodio al 30%, 10% y 2%
13. Sulfato de cobre cristalizado
14. Solución buffer ph 7
15. Solución fehling-soxlet estandarizada
16. Zinc en polvo

C).- MATERIAL DE LABORATORIO

1. Matraz Kyeldahl
2. Matraces de fondo plano
3. Crisoles de vidrio
2. Matraces Erlenmeyer 1000 ml.
1. Mechero de Bunnsen
1. Mufla
1. Extractor de Sxhler

2. Refrigerante de Liebig.
 - . Papel filtro
 - . Estufa
 - . Potenciómetro Beckman modelo 72
2. Vasos de precipitado 1000 ml.
2. Vasos de precipitado 500 ml.
3. Embudos
1. Alargadera en ángulo
 - . Dedales
8. Cajas de Petri
4. Tubos de ensaye 10 ml.
8. Pipetas de 10 ml.
8. Pipetas de 1 ml.

D).- MATERIAL DOMESTICO

- . Charola de aluminio para secado, diseñada para este propósito.
- . Horno
- . Molino manual marca estrella
- . Tela de algodón para prensar
- . Vasija de vidrio o plástico.

M E T O D O S

La división de los métodos es la siguiente:

- I.- Análisis Químicos
- II.- Método de extracción
- III.- Análisis Bacteriológicos.

METODOS ANALITICOS UTILIZADOS PARA LA VALORACION DE LA EFICACIA Y CALIDAD DE LAS PROTEINAS OBTENIDAS.

DETERMINACION DE PROTEINAS.- Procedimiento:

En un matraz Kjeldahl de 500 c.c. se hacen llegar cuidadosamente hasta su fondo 1 gr. del producto molido. Se agregan 25 ml. de ácido sulfúrico concentrado, 1 gr. de sulfato de cobre cristalizado y 12 gr. de sulfato de potasio. Se agita y se calienta a llama directa suave, hasta que la formación tumultosa de espuma ha cesado (de 30 a 45 minutos). Se continúa el calentamiento con llama intensa y ebullición franca y cuando los vapores picantes de anhídrido sulfuroso tienden a desaparecer y el líquido presenta coloración verde azulada, se sigue calentando una media hora más. Toda esta operación se ejecuta dentro de la campana para gases.

Se traslada el contenido resultante a un matraz de un litro, el que lleva previamente unos 50 c.c. de agua, se enjuaga repetidas veces el matraz Kjeldahl con pequeñas porciones de agua destilada que se reúnen en el matraz de 1 lto.

Se monta un aparato destilatorio que consta del matraz de 1 litro, éste unido por la alargadera de Kjeldahl a un refrigerante, de liebig de no menos de 40 cms. y por último el refrigerante se continúa con una alargadera recta que se introduce en el matraz receptor del destilado. Las uniones matraz-alargadera Kjeldahl y de ésta al refrigerante, deben ser hechas por medio de tapones de hule de perfecto ajuste.

Se comienza por mediar en el matraz receptor del destilado que contiene 40 ml. de ácido clorhídrico decinormal. Se alcaliniza el contenido del matraz de 1 litro, por la cantidad necesaria de hidróxido de sodio en lentejas. Se agrega rápidamente dentro del matraz una pulgada de zinc en polvo y se hacen los ajustes necesarios en las partes del aparato.

La alargadera que va en la parte terminal del refrigerante, debe ser en ángulo de madera que su extremidad siempre se hunda bajo la superficie del ácido decinormal, colocado en un matraz y en seguida se calienta intensamente el matraz para provocar una destilación rápida procedente de una ebullición muy intensa pero sin sobresaltos. En 30 minutos de esta operación se reciben 150 ml. de destilado.

Se valora el exceso de ácido en el matraz con hidróxido de sodio decinormal y en presencia de anaranjado o rojo de metilo. Cada ml. de ácido combinado decinormal multiplicado por 0.00798 da -

rá la cantidad de proteínas gramo en la muestra pesada. Se reporta el contenido por ciento en la muestra.

CENIZAS

Procedimiento:

En un crisol tarado se colocan 10 grs. de la muestra, finalmente pulverizada y carbonícese al mechero; posteriormente, calcínese en la mufla hasta residuo ligeramente gris. Si esto no se logra, se humedece el residuo con agua destilada y se calcina de nuevo. Se reporta la cantidad de cenizas por ciento.

CARBOHIDRATOS

Procedimiento:

En un matraz Erlenmeyer de 300 ml. se coloca un gramo de la muestra, se agregan 60 ml. de agua y 1 ml. de ácido clorhídrico. Se calienta a ebullición, con reflujo durante 4 hrs. agitando continuamente al principio de la ebullición para evitar carbonización de la sustancia en las paredes del matraz y disminuir así la formación de gran cantidad de espuma ya que se termina la ebullición, se enfría y se pasa a un matraz de 10 ml., se neutraliza el líquido a pH alrededor de 5, empleando primero la solución de hidróxido de sodio al 30% y al final de la neutralización, hidróxido de sodio al 3%. Para hacer exactamente esto, es útil efectuar una prueba en blanco con 1 ml. de ácido clorhídrico fumante siendo éste valorado con las soluciones de hidróxido de sodio al 30% y la solución al 3% en presencia de fenolftaleína. Se trasladan estos datos a la opera_

ción definitiva y se ajusta el pH indicado. Enseguida se procede a defecación del líquido con unas gotas del reactivo defecante de acetato neutro de plomo; se agita, se completa el volumen a 100 ml. y se filtra; el filtrado se trata con pequeñas adiciones de carbonato sódico anhidro para precipitar el plomo permanente y se vuelve a filtrar. Este líquido diluido a veces en otro matraz aforado de 200 ml. se coloca en bureta para determinar azúcares reductores.

PROCEDIMIENTO DE EYNON Y LANE.

En un vaso de precipitado se colocan 10 ml. del reactivo de fehling. Soxhlet y se calienta a ebullición; se hierven 15 segundos y se agregan rápidamente cantidades de solución de azúcar hasta que queda un débil color azul; entonces se agregan de 2 a 5 gotas de azul de metileno y se completa la valoración adicionando la solución de azúcar gota a gota.

DETERMINACIÓN DE pH

Para esta determinación se utilizó un potenciómetro Beckman modelo 72, el cual se enciende una hora antes de llevar a cabo dicha determinación. Se nivela el potenciómetro utilizando una solución buffer de fosfatos (pH 7) tomando en cuenta la corrección, que indique la solución a la temperatura que se haga la determinación. Se colocan las soluciones por ensayar en vasos de precipitado y se hacen las lecturas correspondientes, teniendo cuidado de enjuagar el electrodo y nivelar el potenciómetro después de cada determinación.

DETERMINACION DE CALORIAS

Teniendo la cantidad de grasa, proteína y carbohidrato, se procede al cálculo de calorías. Sabiendo que el calor de combustión de 1 gr. de materia químicamente pura se designa por su contenido en energía, obtenemos entonces la siguiente fórmula:

$$\text{Calorías} = (9) (\text{gr. de grasa}) + (4) (\text{gr. de proteína}) + (4) (\text{gr. de carbohidrato}).$$

FIBRA

Procedimiento:

El producto agotado por extracción etérea expuesto a macerar durante 24 hrs. en una solución alcalina de hidróxido de sodio al 2%, se decanta el líquido sobrenadante y se procede a 2 tratamientos semejantes. El residuo recogido sobre un filtro tarado se lava con agua clorhídrica y después con agua destilada. Se seca a la estufa hasta peso constante. El filtro y su contenido incinerados; sustrayendo el peso de las cenizas. Se reporta por ciento.

EXTRACTO ETEREO

Procedimiento:

Se introduce en el extractor un dedal de papel filtro; dicho dedal lleva dentro la muestra finamente pulverizada y se tapa con un pedazo de papel filtro. Se carga el extractor con éter cuidando que el nivel de dicho líquido no sobrepase la mitad del ensanchamiento del tubo del sifón. Se adapta entonces el extractor con el matraz inferior y el refrigerante de reflujo por medio de tapones de corcho.

Se deja en reposo por varias horas para facilitar la disolución de la materia grasa, se efectúa un calentamiento leve sobre baño de agua el que provoca la destilación del éter que cae de nuevo sobre el cuerpo del extractor y lo llena hasta que la rama del sifón lateral ejerce su propia acción y así después de 2 hrs. se desmonta el aparato y se prueba si el disolvente no arrastra más grasa; logrando esto, la totalidad de la materia grasa se encuentra en el matraz se recupera el disolvente total por destilación, se pesa el matraz con su contenido y por diferencia se conoce el peso de la materia grasa y se relaciona a 100 grs. del producto.

III.- ANALISIS BACTERIOLOGICOS.

I.- DETERMINACION DE MESOFILICOS AEROBIOS.

El material utilizado para esta prueba fué esterilizado por:

a) Vía Seca: Horno a 180°g. por 120 minutos.

b) Vía Húmeda: 15 minutos a 120 litros de presión.

El área de trabajo se mantuvo estéril por acción de rayos ultravioleta.

En un tubo se colocan 1 g. de muestra y 9 ml. de solución buffer y se procede igual según las diluciones requeridas.

Se inocula 1 ml. de la dilución conveniente en una caja de Petri. Se añade agar count-plate (Merck) estéril y fundido, que mantenga una temperatura de 55°C. se agita la muestra con movimientos rotatorios y se deja solidificar, se incuba a 37°C; se hace el recuento de colonias ayudado por cuenta colonias a las 12 y 24 horas.

2.- INVESTIGACION DE COLIFORMES.

De la dilución 10^{-2} se toma 1 ml. y se inocula en una caja de petri y se añade agar EMB. estéril y fundido que mantenga una temperatura de 55°C, se agita la muestra con movimientos rotatorios y se dejan solidificar y se incuba a 37°C, se hace el recuento de coliformes por sus colonias características en este agar, ayudado por el cuenta-colonias a las 24 y 48 horas.

3.- INVESTIGACION DE HONGOS Y SALMONELLAS.

De la dilución 10^{-2} se transfiere 1 ml. en una caja petri y se añade agar sabourad ya estéril y fundido que mantenga una temperatura de 55°C y se procede de igual manera que en el punto anterior. De esta misma dilución se toma para investigación de salmonella 1 ml. diferenciándose únicamente en el medio de cultivo ya que para salmonella se utilizó agar verde brillante.

II.- METODOS DE EXTRACCION.

1.- Las hojas previamente lavadas (el lavado tiene como fin eliminar basura y tierra y se hace con agua natural), se cortan en pequeños pedazos.

2.- Se efectúa la molienda en un molino manual obteniéndose de este proceso una pasta uniforme, la cual se recibe en vasijas de vidrio o plástico.

3.- Se procede a hacer la expresión para la obtención del jugo, lo que se logró, empleando una tela de algodón como soporte de la masa, obteniéndose así un líquido (jugo).

4.- El jugo se calienta a una temperatura de 80°C durante 10 minutos para la precipitación de las proteínas.

5.- Se decanta, se filtra.

6.- El precipitado se deshidrata en el horno a una temperatura de 100°C.

7.- Enseguida se pasa a un mortero y se tritura hasta obtener un polvo fino.

RESULTADOS DE LOS METODOS ANALITICOS.

Para evaluar la calidad del extracto proteico se efectuaron los análisis químicos cuyos resultados fueron los siguientes:

1.- En la determinación de extracto étereo que para nuestros fines se considera como grasa, se obtuvieron resultados variables desde 1.2% en las hojas de zacate hasta 11% en las de betabel (Tabla 1, Gráfica 1).

2.- En la determinación de proteínas se observa que es mayor el contenido en el concentrado de las hojas de betabel y zacate, pero obteniéndose también porcentajes satisfactorios en los otros tipos de hojas (Tabla 1, Gráfica 2)

3.- Se observó que se obtuvieron porcentajes elevados en la determinación de carbohidratos en el concentrado proteico principalmente la hoja de zanahoria (Tabla 1, Gráfica 3).

4.- Las determinaciones de fibra y cenizas resultaron también variables según el tipo de concentrado de hojas (Tabla 1).

5.- Se observó el pH en el prensado de las hojas encontrando una pequeña variación de 5 a 5.5 y observando que el pH no tiene influencia en la extracción de las proteínas.

6.- En la evaluación de calorías obtenidas por gramo de producto se obtiene la mayor cantidad en las hojas de betabel, pero obtenien

do en todos los casos un buen suministro de calorías. (Gráfica 4)

TABLA No. 1

	Cenizas	Fibra	Grasa	Prote- ínas.	Carbo- hidratos
Betabel	2.0%	5.0%	11.0%	45.3%	46.7%
Rábano	6.2%	14.6%	7.0%	27.2%	45.0 %
Zanahoria	6.8%	5.5%	7.5%	28.5%	51.7%
Zacate	8.7%	12.7%	1.2%	35.2%	42.2%
Cebolla	6.3%	10.9%	10.0%	34.0%	38.8%

RENDIMIENTOS OBTENIDOS DE LAS EXTRACCIONES.

Los rendimientos obtenidos al efectuar el método de extracción mencionado fueron los siguientes:

TABLA No. 2

	Kgs. de Hojas	Grs. de polvo obtenido	% Rendi- miento.
Betabel	5	54	1.08
Rábano	15	73	0.486
Zanahoria	7	40	0.571
Zacate	6	60	1.0
Cebolla	5	28.4	0.568

RESULTADOS DE LOS METODOS BACTERIOLOGICOS.

a) CUENTA MESOFILICOS AEROBIOS. A 370 C por 24 ho -
ras en Agar Count-plate. Negativo en todas las muestras.

b) SIEMBRA EN AGAR EMB. Resultó negativo en todos los
casos, es decir, coliformes negativos.

c) SIEMBRA EN AGAR VERDE BRILLANTE. Resultó en to -
dos los casos negativo, es decir salmonella negativa.

d) SIEMBRA EN AGAR SABOURAD. Resultó en todos los ca
sos negativos, es decir, hongos y levaduras negativos.

Para demostrar la eficacia que nos pueda traer el consumo - de polvo proteico obtenido de las hojas verdes, se hizo un estudio comparativo con diversos alimentos que se incluyen en la dieta - humana.

Obteniéndose los siguientes resultados. (Tabla 3, Gráfica 5)

TABLA No. 3

	% Proteínas
Carne	18.0
Maíz	9.5
Frijol	2.4
Leche	3.5
Betabel	45.3
Rábano	27.2
Zanahoria	28.5
Cebolla	34.0
Zacate	35.2

Como puede observarse, el consumo del polvo proteico sería de enormes beneficios en la dieta del campesino ya que encontramos un alto contenido de proteína siendo el más concentrado el de las hojas de betabel y el de menor concentración el de las hojas - de rábano.

Aunque aún es mayor su contenido proteico que el de la car_ ne el cual es uno de los alimentos básicos de mayor contenido pro_ teico en la dieta del mexicano.

Por otra parte, al observar los resultados microbiológicos - podemos deducir que el polvo proteico no causaría ningún tipo de contaminación o infección al ser ingerido.

Quizá esto sea debido a su presentación sin humedad, por lo que es recomendable cuidar que este polvo no contenga indicios de ésta.

PRUEBA EXPERIMENTAL COMPARATIVA CON DIFERENTES DOSIFICACIONES DE EXTRACTO PROTEICO EN UNA TORTILLA.

Esta prueba se efectuó con el fin de hacer más real el consumo de dicho extracto proteico y se procedió a mezclar cantidades diferentes de polvo proteico en la masa de harina de maíz con una humedad de 45%. Estas cantidades fueron añadidas 10%; 7.5%; y 5.0%, dado que se hicieron pruebas al 15% y el aspecto y sabor de la tortilla fueron muy desagradables. Se fabricaron las tortillas en el laboratorio, obteniendo los siguientes resultados (Tabla - 4).

Tortilla con 10% de extracto proteico:

Presentó humedad 38%, el color obscuro, sabor igual que la tortilla normal y contenido de proteínas 38.08%. Grado de aceptación malo.

Tortilla con 7.5% de extracto proteico:

Presentó humedad 38%, el color ligeramente obscuro, sabor igual que la tortilla normal y contenido de proteínas 24.77%. Grado de aceptación regular.

Tortilla con 5.0% de extracto proteico:

Presentó humedad 38% , el color ligeramente oscuro, sabor - igual que la tortilla normal y contenido de proteínas 15.71%. Gra_ do de aceptación bueno.

TABLA No. 4

	Humedad	Color	Sabor	Conteni_ do pro_ teinas.	Grado de acepta - ción.
Tortilla Extr. Proteico 10%	38 %	oscuro	normal	38.08 %	malo
Tortilla Extr. Proteico 7.5%	38 %	lig. obs.	normal	24.77%	regular
Tortilla Extr. Proteico 5.0 %	38 %	lig. obs.	normal	15.71 %	bueno
Tortilla normal	45 %	normal	normal	10.00 %	bueno

Del análisis anterior, podemos observar que se elevó en gran proporción el valor nutritivo de la tortilla.

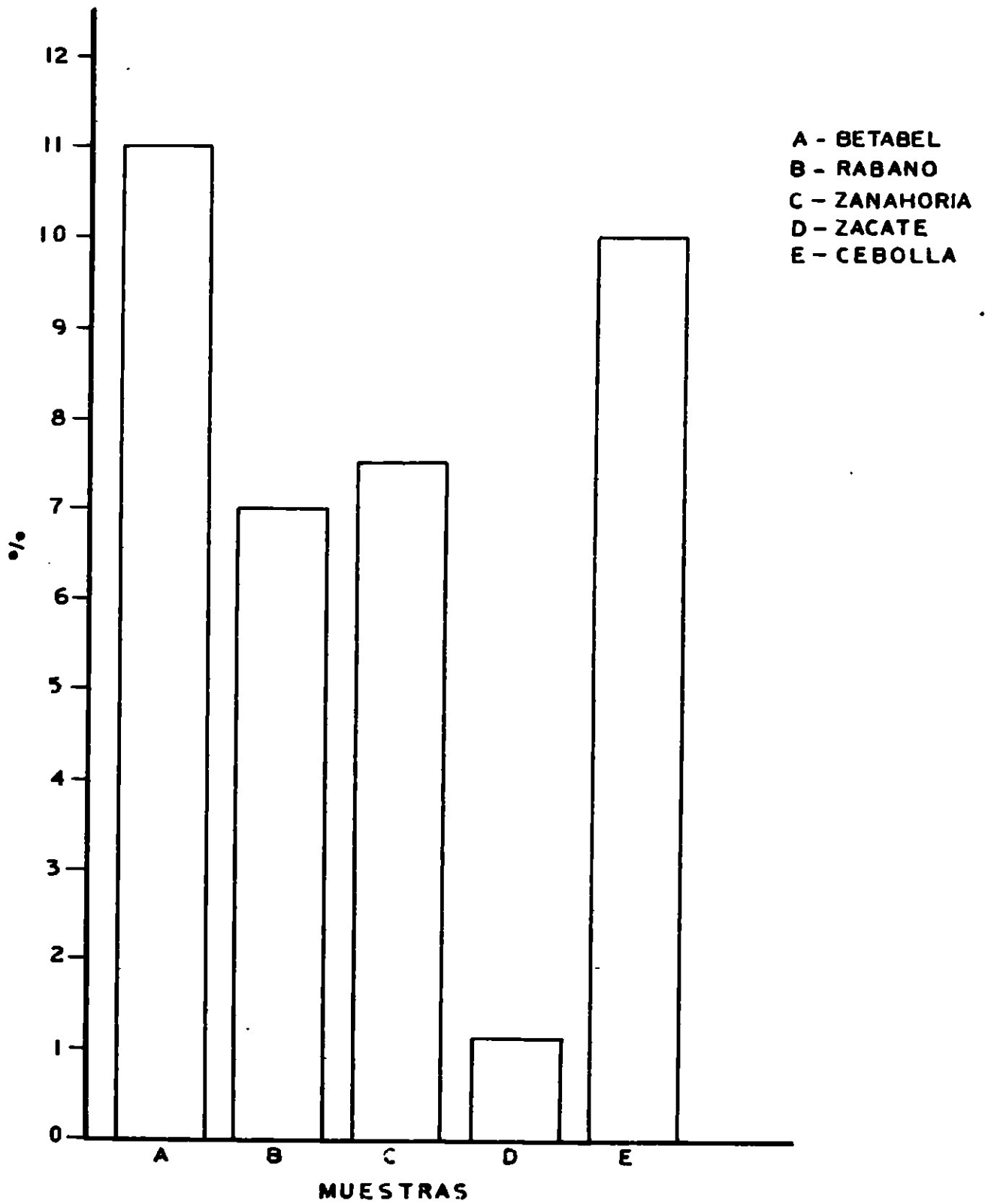
C O N C L U S I O N

Para obtener el polvo proteico el cual es objeto de este trabajo, se deben preparar como se menciona en la hoja No. 12, denominado método de extracción, mezclando después este polvo en cantidades de 10% a 5% en masa para tortillas, obteniendo así una elevación de proteínas de 28% lo que enriquece considerablemente el valor nutritivo de este alimento.

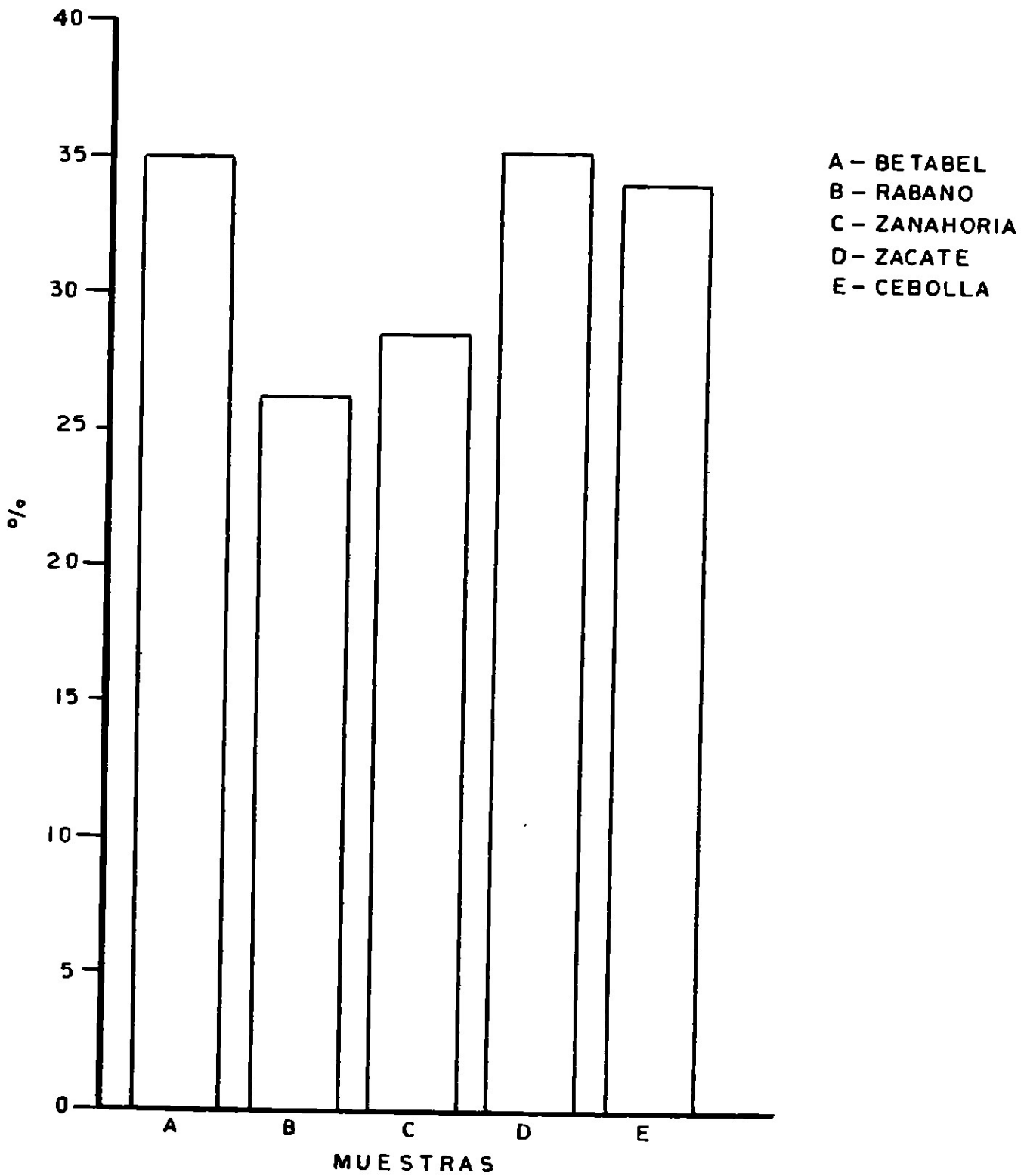
Por otro lado se observó que dicho extracto se podrá conservar por un largo tiempo sin que sufra ningún deterioro, lo que facilitará al campesino a prepararlo en cantidades más o menos grandes y conservarlo para que sea consumido según sus necesidades.

Dado que las hojas utilizadas en la elaboración del extracto proteico son no utilizadas en la dieta normal, es decir las podemos obtener sin costo alguno. El polvo obtenido por consiguiente, no tiene costo, lo que es una ventaja para el nivel económico en esta clase social.

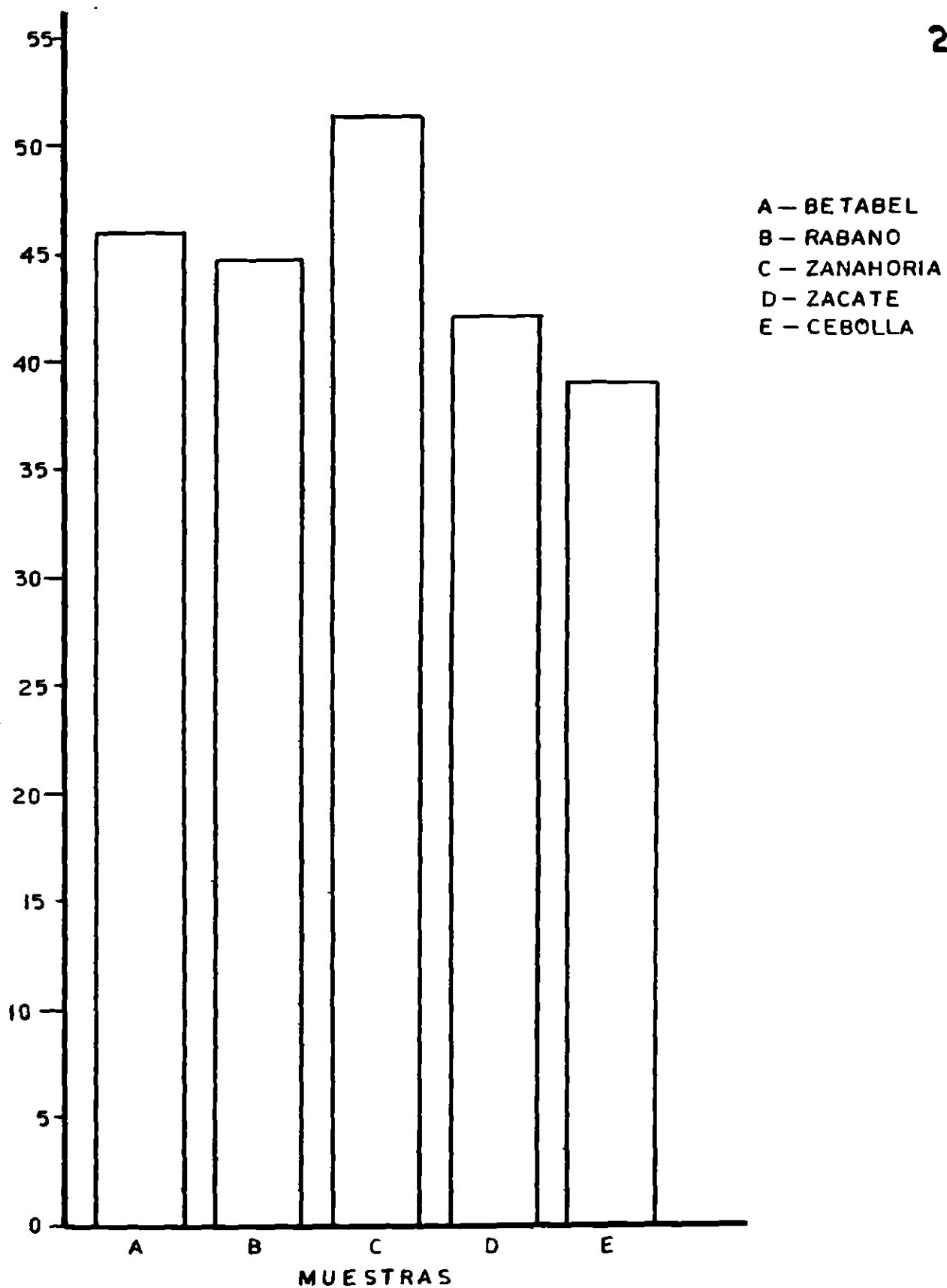
Por lo que respecta al grado de aceptación, no fué muy bueno por el consumidor debido al color que presenta la tortilla. Es recomendable enmascarar dicho color añadiendo alimentos tales como el chile para que así el polvo proteico tenga una mayor aceptación entre los campesinos.



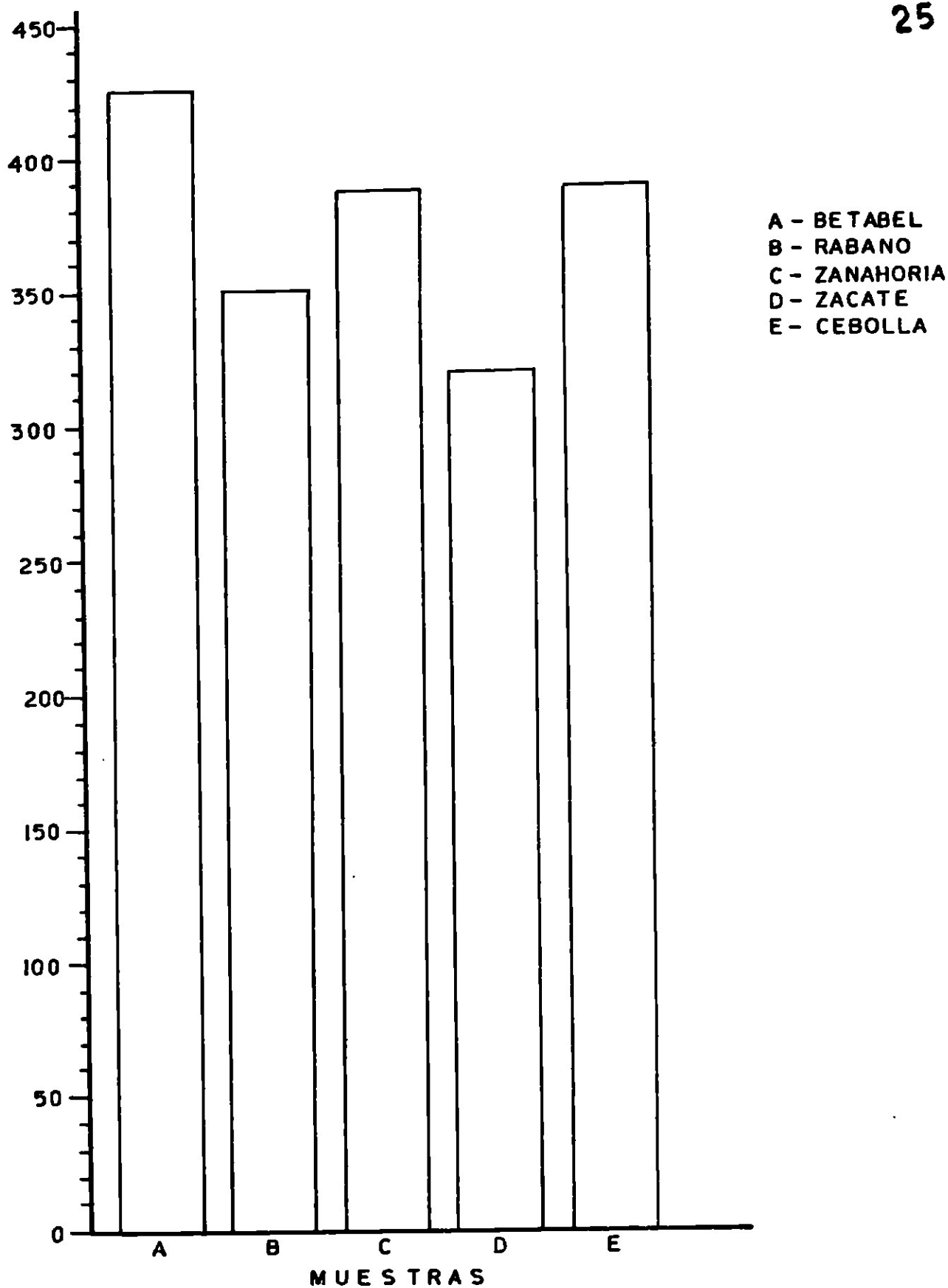
GRAFICA No. 1.- CONTENIDO DE GRASA



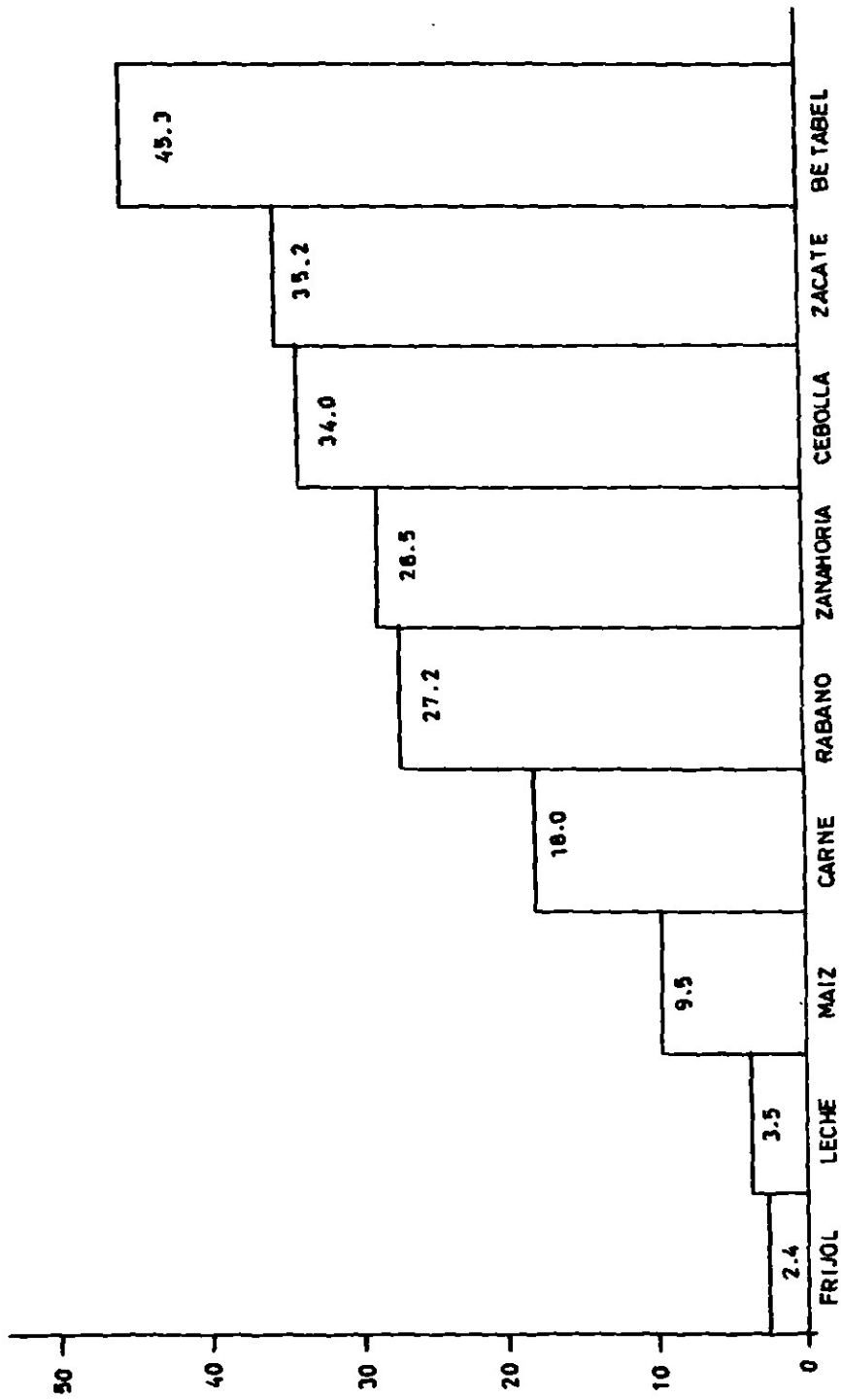
GRAFICA No. 2.- CONTENIDO DE PROTEINAS



GRAFICA No. 3.- CONTENIDO DE CARBOHIDRATOS



GRAFICA No. 4.- CONTENIDO DE CALORIAS



GRAFICA No. 5

B I B L I O G R A F I A

BRAVERMAN, F., Introducción a la Bioquímica de los Alimentos, 6a. - Edición C.E.C.S.A., Barcelona España (1978).

CRAVIOTO, R.O., MASSIEU, J., GUZMAN, J. CALVO. Composición de los Alimentos Mexicanos. Ciencia II: 129 - 55 pp. (1951).

DESROSIER, N.W., Conservación de Alimentos. 8a. Impresión, C.E.C. S.A., México, D.F. (1977).

FRAZIER, C.W., Food Microbiology. 2a. Edición, A.P.H.A., Washington, D.C. (1965).

FURIA, T.E. Handbook of food aditives, 2a. Edición. G.R.C., California, U.S.A. (1978).

HARTMAN, G.H., AKESON, W.A. STAHMANN, M.A. Leaf Protein - Concentrate Prepared by Spray Drying. J. Agr. Food Chem. 15, 74-9 (1967).

JAMINSON N. y JOBBER, P., Manejo de los Alimentos, 3 V, Centro de Ayuda Técnica (FAD) México, Buenos Aires. (1975).

PIRIE, N.W., Some Practicar aspects of Leaf Protein Manufacture, Food Manufacture 17: 283 (1942).

POTTER, N., Ciencia de los Alimentos.- 4a. Ed. Acribia, Barcelona España (1976).

SALAZAR, H., Sustancias Alimenticias. 2a. Edición, Editorial Dossat, - San Sebastián, España. 500-501 pp. (1947)

THATCHER, D.S. Análisis Microbiológicos de los Alimentos. 2a. Edición, Acribia, Zaragoza, España. (1973).

