

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

FACULTAD DE INGENIERIA

Guatemala, Centro América

EXTRACCION DE DERIVADOS PROTEICOS DE LA  
SEMILLA DE ACEITUNO



TESIS

Presentada a la Junta Directiva  
de la  
Facultad de Ingeniería  
de la  
Universidad de San Carlos de Guatemala  
por

MARIO RENE ALVAREZ BATRES

Al conferírsele el título de:

INGENIERO QUIMICO

Guatemala, Agosto de 1972

PROCESO DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
Biblioteca Central



R  
08  
T(4)  
C.2

JUNTA DIRECTIVA  
DE LA  
FACULTAD DE INGENIERIA  
DE LA

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

Decano:	Ing. Hugo Quan Ma
Vocal Primero:	Ing. Marco Tulio Samayoa
Vocal Segundo:	Ing. Rodolfo Gonzáles Morasso
Vocal Tercero:	Ing. Adolfo Behrens M.
Vocal Cuarto:	Br. Jorge Luis Cabrera Morales
Vocal Quinto:	Br. Manuel María Rendón Paz
Secretario:	Ing. José Luis Terrón

TRIBUNAL QUE PRACTICO EL EXAMEN  
GENERAL PRIVADO

Decano:	Ing. Amando Vides Tobar
Examinador:	Ing. Adolfo Behrens M.
Examinador:	Ing. Miguel A. Canga A.
Examinador:	Ing. Julio César Vettorazzi
Secretario:	Ing. Héctor Centeno B.



## DEDICO ESTE ACTO

A Dios Todopoderoso

A la memoria de mi madre: **Marfa Lidia Batres**

A la memoria de mi tía: **Susana Montealegre A.**

A la memoria de mi madre política:

**Rosa Bonilla de Contreras**

A mi madre adoptiva:

**Marfa Esther Montealegre A.**

A mi padre:

**José Eduardo Alvarez Barredo**

A mi esposa:

**Rosa Amabilia Contreras de Alvarez**

A mis hijos:

**José Eduardo y  
Rosa Amabilia**

A mis hermanos:

**Marfa Eugenia Alvarez  
Miriam Alvarez  
José Antonio Alvarez  
Hugo Leonel Alvarez  
Celia Eleonora Alvarez  
Alma Carolina Alvarez  
Eduardo Alvarez**

A mis tíos, especialmente a: **Constantino Alvarez Barredo**

A mis primos y amigos

A la Universidad de San Carlos de Guatemala



HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR:

Cumpliendo con lo establecido por la ley universitaria, me  
permiso presentar a vuestra consideración mi trabajo de te-  
sis:

EXTRACCION DE DERIVADOS PROTEICOS DE LA  
SEMILLA DE ACEITUNO

tema que me fuera asignado por la Junta Directiva de la  
Facultad de Ingeniería



## CONTENIDO

	<u>Página</u>
I. Sumario	1
II. Introducción	3
III. Revisión de literatura	7
IV. Materiales y métodos	13
a) Preparación de la muestra	13
b) Análisis químico de la harina	13
c) Extracción de las proteínas	13
d) Refinamiento de las proteínas extraídas	14
e) Ensayos biológicos	15
V. Resultados	17
VI. Análisis de resultados	33
VII. Conclusiones	35
VIII. Bibliografía	37



## RECONOCIMIENTO

El presente trabajo, fue desarrollado en los laboratorios de la División de QUIMICA AGRICOLA del INSTITUTO de NUTRICION de CENTRO AMERICA Y PANAMÁ —INCAP—, gracias a la colaboración prestada por los Doctores, Ricardo Bressani y Luis Gonzaga Elías.

Especial agradecimiento, al Ingeniero Rodolfo Solís Oliva, asesor de la presente tesis, por su colaboración para el desarrollo de este trabajo.



## I. SUMARIO

El presente trabajo, tuvo como único fin, encontrar los puntos óptimos para la extracción de las proteínas de la harina de semilla de aceituno y el estudio de la calidad de las mismas, por medio de ensayos biológicos, ya que para que una harina pueda utilizarse en dietas para animales monogástricos y principalmente para seres humanos, debe satisfacer ciertos requisitos especiales, para que no cause daños al organismo consumidor.

Para lograr el objetivo de este trabajo, se experimentó extraer la proteína con solución alcalina y reporta que el máximo de extracción fue obtenido con una solución de hidróxido de sodio: 2 N, tiempo de agitación: 2 horas, y relación sólido/líquido: 1/100.

Con estos tres parámetros, se logró la extracción del 78.35% de la proteína contenida en la harina, obtenida como residuo de la extracción de la grasa por el método de prensa continua de alta presión (expeller).

La precipitación máxima fue de 81.58% de la proteína extraída ajustando el pH a 3.7, lo que representa un 63.88% de la proteína original.

Para el refinamiento de la proteína, se encontró que al alcohol isopropílico al 98%, reduce considerablemente el alto contenido de toxicidad de las proteínas extraídas.



## II. INTRODUCCION

La creciente demanda de proteínas, con fines alimenticios, ha sido un factor importante para el desarrollo de una tecnología adecuada para el procesamiento de las semillas oleaginosas, debido a que éstas constituyen en la actualidad, una fuente de proteínas de gran volumen.

Debido a que la extracción de aceite de las semillas oleaginosas, es en la actualidad, el producto principal, resulta económico la utilización de la torta residual como materia prima para la obtención de proteínas.

Las ventajas que tienen estas tortas residuales son:

Alto contenido protéico y su valor nutricional protéico para no rumiantes, es de medianamente bueno a muy bueno.

Otras fuentes de proteínas, tales como granos, pastos etc. son menos ricos en proteínas y tienen un valor nutricional relativamente bajo. Además, los granos con alto porcentaje de proteínas, contienen una gran proporción de celulosa, la que es muy difícil de digerir para no rumiantes.

Uno de los derivados de las semillas oleaginosas, es la semilla de aceituno (Familia: SIMARUBACEAS. Género: SIMAORUBA. Especie: GLAUCA OFFICINALIS. Nombre vulgar: JUCUMICO, ACEITUNA SIMARRUBA.)

La semilla de aceituno, tiene mucha semejanza con el olivo. La fruta, es alrededor de 37 mm de largo, por 20 mm de diámetro y la pulpa que cubre la semilla tiene un sabor



dulce, la que es bastante apetecida por los niños. La pepita es alrededor de 20 mm de largo por 12 mm de diámetro y consiste de 30% de almendra y 70% de cáscara. El contenido de grasa de la semilla varía de 55 á 65% (11).

El almacenamiento de la semilla, no presenta problemas especiales, excepto que se debe tener cuidado con tra infestaciones de insectos, pues puede ser atacada por la polilla de harina de la INDIA o la polilla de la almendra (PLODIA INTER PUNCTELLA) (EPHESTIA CAUTELLA). (18).

Actualmente, esta semilla se está procesando en El Salvador y según datos recabados desde el año de 1958 una fábrica compraba de 800,000 á 1,200,000 libras de semilla por año, todas provenientes de árboles silvestres. La harina producida es aproximadamente la mitad del peso de la semilla (11).

La grasa, es un sólido a la temperatura ambiente: y después de refinada puede usarse en alimentos humanos. El refinado, se hace de una manera similar al usado para refinar el aceite de coco, usando hidróxido de sodio 22° Bé en una proporción que es alrededor de 60% del usado para el refinamiento del aceite de algodón, y a una temperatura de 45°C (115°F).

El soapstock, es sólido y se separa fácilmente. Durante el refinamiento alcalino de la grasa no hay reducción en el color, pero la grasa es blanqueada con tierra de infusorios. La grasa se desodoriza por 4 horas a 232°C (450°F).

La grasa cruda puede usarse directamente para la producción de jabón, ya que es fácilmente saponificada y se obtiene un jabón con excelentes cualidades. (18).

La harina sin embargo, es tóxica y no se puede usar di



rectamente para alimentación, consecuentemente ésta, se ha estado usando como fertilizante orgánico, ya que contiene 8% de nitrógeno, 2% de ácido fosfórico, 1% de potasa y de 8 á 12% de aceite. (11).

De la corteza de otras especies de Simaruba se ha aislado un glicósido, El Simaroubidin con fórmula  $C_{23}H_{34}O_9$  el cual, se está usando en la actualidad como un eficiente amebicida.



### III. REVISION DE LITERATURA

#### A) Solubilidad de las Proteínas

Es sabido, que la disminución en la solubilidad de las proteínas, es una medida Físico-Química, que demuestra la desnaturalización de las mismas debido al efecto del calor. De una manera general se puede decir, que la solubilidad de las proteínas, es un reflejo de la intensidad del calor que sufren durante su procesamiento.

La utilización de esta constante física, es importante no solo desde el punto de vista nutricional, sino que también, porque el grado de solubilidad de las proteínas vegetales en determinados solventes, permite su utilización en los procesos industriales.

Por otro lado, el pH del solvente tiene un efecto marcado en la capacidad de extracción. En líneas generales, cuanto más alcalino es el pH, mayor es la solubilidad de las proteínas. A un pH de 12, casi el 100% de las proteínas es extraída.

En el lado ácido, hay un punto máximo y mínimo de solubilidad y de este último, (mínimo de solubilidad) se aprovecha para la precipitación de las proteínas extraídas.

Este punto mínimo de solubilidad, se obtiene por el agregado de sales, ácidos o diálisis.

De acuerdo con las propiedades de solubilidad, las proteínas pueden clasificarse en: GLOBULINAS, las que son



solubles en soluciones salinas. GLUTELINAS, solubles en álcalis o ácidos. ALBUMINAS, solubles en agua y soluciones salinas. PROLAMINAS, solubles en etanol 70 á 80%, pero insolubles en agua o etanol absoluto. Y SCLEROPROTEINAS, insolubles en soluciones acuosas.

Sin embargo, esta clasificación es relativa a las proteínas intactas, porque, como se dijo anteriormente, cuando estas han sufrido efectos Físicos o Químicos, experimentan una disminución en su solubilidad.

#### B) Factores que Afectan el Valor de una Proteína. (8)

Existen varias maneras para expresar numéricamente el valor nutricional de una proteína. Todos estos métodos, miden la capacidad que tienen las proteínas para suplir los nutrientes esenciales, para el crecimiento y mantenimiento de el organismo.

El método clásico es el de Thomas, al cual se le asigna el nombre de "Valor Biológico" y se define como la cantidad de nitrógeno absorbido por el canal gastro-intestinal y que es retenido por el cuerpo para construir, reparar y mantener las proteínas en los tejidos. Uno de los principales conceptos que emerge de las investigaciones nutricionales, es que el valor biológico de una proteína, está determinado por el contenido del aminoácido esencial, y aún más importante es, que el valor nutricional, está determinado por el balance del aminoácido esencial con respecto a las otras proporciones de los otros aminoácidos existentes. Se ha encontrado que proteínas de origen vegetal, contienen aminoácidos en cantidades y proporciones que son menos ajustables a las necesidades humanas, que proteínas de origen animal. Pero la efectividad del balance del aminoácido esencial o valor nutritivo de una proteína, no está siem



pre indicado por un simple examen de su contenido de aminoácido esencial. Hay dos razones para esto, primero, aunque se reconocen las necesidades de aminoácidos para algunas especies, estas necesidades son variables de acuerdo al estado fisiológico del sujeto; segundo, el contenido de aminoácidos obtenido por el análisis usual de aminoácidos, no necesariamente reflejan la aprovechabilidad de estos por el organismo.

En general, la digestibilidad y por ende, su aprovechamiento, se ha comprobado que es más bajo en algunas proteínas de origen vegetal, que en las de origen animal.

Aunque se conoce muy poco de las causas para la baja digestibilidad y aprovechamiento de aminoácidos de origen vegetal, se pueden sacar dos conclusiones: Primero, que hay ciertos factores inherentes en la naturaleza de las semillas y segundo, que algunas veces son resultantes del procesamiento de las mismas.

Los métodos industriales usados en la actualidad, para el procesamiento de las harinas de semillas oleaginosas, están gobernadas por su eficiencia en la extracción del aceite, ya que hasta la fecha, la torta es considerada como un subproducto, siendo el aceite el producto más importante desde el punto de vista económico.

Los métodos de extracción de los aceites son los siguientes: 1) por prensa hidráulica, 2) por prensa continua de alta presión (expeller), 3) por prensa y solvente y 4) solvente.

El aceite extraído de la semilla en estudio, es por el método de prensa continua de alta presión (expeller), no pudiéndose hasta la fecha hacer comparaciones con otras harinas obtenidas por otros métodos, pero estudios que se han



realizado sobre harinas comúnmente conocidas, reportan que el método de prensa y solvente, es el más conveniente, porque las harinas preparadas por este proceso, tienen la ventaja de poseer un mejor valor nutritivo, comparadas con las obtenidas por los dos procesos anteriores. (9). Esto es debido, a que en este proceso, la temperatura y la presión, no son tan altos como en la prensa hidráulica y la prensa continua de alta presión (expeller), ya que la cantidad restante de aceite en la torta, es extraída por el solvente, que puede ser hexano, acetona, o una mezcla azeotrópica de acetona-agua-hexano.

El proceso de solamente solvente, ha sido usado últimamente con buenos resultados. La característica de las harinas procesadas directamente por solvente, depende del tipo de solvente usado en lo que se refiere, al contenido de agentes tóxicos libres.

Se sabe, que la harina de semilla de aceituno, contiene uno o varios agentes tóxicos y sería necesario hacer extracciones de la grasa con diferentes solventes, para determinar cual de ellos da la mayor extracción de aceite y agentes tóxicos.

Desde el punto de vista Químico y nutricional, las tortas producidas por estos diferentes procesos tienen características distintas.

En el proceso de prensa, (10) los cambios químicos más marcados, se realizan al nivel de las prensas, notándose una disminución en la cantidad de la grasa y agente tóxico, por otro lado, debido a que en esta fase del proceso, se extrae el aceite, se observa un aumento en la cantidad de proteína, la que puede ser aumentada posteriormente separando la proteína de la fibra, lo cual fue el objetivo de este trabajo.



En el método de prensa y solvente, se obtienen los mismos cambios químicos, aunque en diferente magnitud, por ejemplo, la cantidad de aceite en el producto final es menor ya que se ha incorporado una torre de extracción por solvente en el proceso.

En la extracción del aceite por solvente, o una mezcla de solventes, la composición química es bastante similar al material obtenido por el proceso de prensa y solvente, excepto en el contenido de agentes tóxicos que dependen del solvente usado.

Posiblemente uno de los factores más importantes a controlar en la harina de semilla de aceituno, sea un pigmento, el que aparece con un color café intenso en el momento de precipitar la proteína a su pH de menor solubilidad. Este pigmento, puede ser una de las sustancias tóxicas que está presente en la harina, la que es mortal usándola como se obtiene de la extracción del aceite.



#### IV. MATERIALES Y METODOS

##### a) Preparación de la Muestra

El material que se usó para el presente trabajo fue, la harina de semilla de aceituno (Simaoruba Glauca) proveniente de la fábrica "El Dorado", El Salvador. La harina fue secada en horno de aire caliente a  $60^{\circ}\text{C}$  durante 24 horas, luego molida y tamizada (tamiz 30) y almacenada en cuarto frío, a una temperatura de  $4^{\circ}\text{C}$ , hasta el momento de los análisis químicos y las pruebas de extracción.

##### b) Análisis Químico

Para las determinaciones de proteínas, grasa, humedad, fibra cruda y calcio, se usaron los métodos de la A.O.A.C. (14). La determinación de fósforo, se realizó colorimétricamente por el método de Fiske y Subbarow (15), con la modificación de Lawry y López (16).

##### c) Extracción de Proteínas

Con el objeto de encontrar el punto de mayor extracción de las proteínas solubles en hidróxido de sodio, se escogió como concentración inicial 0.02N, la que se fue aumentando hasta llegar a una concentración de 2.5N.

Para este primer paso se tuvo como parámetros constantes, la relación sólido/líquido de 1/100 y el tiempo de agitación de 1 hora.



Una vez encontrada la concentración óptima del solvente para la extracción de las proteínas, se investigó la influencia que podría ejercer, las variaciones en el tiempo de agitación, encontrándose un tiempo óptimo para la mayor extracción de proteínas. Para la investigación de este segundo parámetro se tomaron como constantes, la concentración de soda que dió la mayor extracción y la relación sólido/líquido de 1/100.

Como última fase, se procedió a la investigación de los efectos que podría tener la relación sólido/líquido, tomando como constantes la concentración de soda y el tiempo de agitación que dieron el mayor porcentaje de extracción. Después de haber encontrado los tres parámetros más importantes que afectan, o, más bien dicho, que influyen en el proceso de extracción de las proteínas, se procedió a investigar el punto de menor solubilidad. Este punto fue alcanzado por la adición de ácido clorhídrico concentrado a la solución soda-proteínas.

#### d) Extracción de Proteínas a Mayor Escala

Con el objeto de estudiar el valor nutritivo de las proteínas extraídas, se procedió a la extracción de éstas en mayor escala, para lo cual, se tomaron los siguientes parámetros:

Concentración de soda 2N  
 Tiempo de agitación 2 horas  
 Relación sólido/líquido 1/10 (esta modificación en la relación sólido/líquido se hizo, por la dificultad de trabajar con grandes volúmenes en el laboratorio)  
 pH de precipitación 3.7

El procedimiento seguido para alcanzar este objetivo



fue el siguiente: Se pesaron muestras de medio kilo cada una, agregándosele cinco litros de solución de hidróxido de sodio 2 N y durante dos horas se colocaron las muestras en un agitador mecánico. Al final de la extracción, se centrifugó durante 20 minutos a 4,000 RPM, separando de esta manera el extracto del residuo, luego se procedió a la precipitación de las proteínas solubilizadas, agregando ácido clorhídrico concentrado hasta alcanzar el pH deseado de 3.7, para luego centrifugar durante 30 minutos a 4,000 RPM y así obtener la separación de las proteínas precipitadas.

Los pasos siguientes consistieron, en liofilización de las proteínas y posteriormente su tamizado.

El material así obtenido, se analizó para su contenido de nitrógeno por el método de Macro Kjeldahl.

#### e) Refinamiento de las Proteínas

Para la investigación en el refinamiento de las proteínas se siguió el siguiente método:

Lavado por reflujo con agua durante 24 horas.

Lavado por reflujo con alcohol isopropílico 98% durante cinco días.

Liofilización de la proteína refinada y su tamizado.

#### f) Ensayos Biológicos

Para estos ensayos, se usaron ratas blancas de la raza Wistar, provenientes de la colonia del INCAP, de aproximadamente 21 días de nacidos.

Los animales fueron alojados en jaulas individuales,



con fondos levantados, de tela metálica para evitar copro-  
fagia, suministrándoles agua y alimento ad libitum, lleván-  
dose semanalmente, un récord de consumo de alimento y  
aumento de peso con el objeto de calcular la eficiencia  
protéica durante 28 días.

Se llevaron a cabo en total tres ensayos biológicos con  
la proteína extraída por el método apuntado en el inciso  
"d".

En el primer caso, usando proteína sin refinar, fueron  
alimentadas las ratas con la dieta basal descrita en el cua-  
dro No. 7.

En el segundo caso, se usó la dieta anterior, pero susti-  
tuyendo 50% en peso de la cantidad de almidón, por 50%  
de azúcar, esta dieta se encuentra descrita en el cuadro  
No. 8.

En el tercer caso, se usó la misma dieta basal, pero es-  
ta vez, con proteína refinada. En el cuadro No. 9 se descri-  
be esta dieta.

Todas las dietas usadas para los ensayos biológicos con-  
tenían 10% de proteínas.

Los ensayos se hicieron en ocho animales (4 machos y  
4 hembras) para el primero y segundo caso, para el tercero  
se usaron seis animales (3 machos y 3 hembras).



## V. RESULTADOS

Los resultados de los análisis Químico Proximal y el contenido de Calcio y Fósforo, están expresados en los cuadros No. 1 y 2.

### CUADRO No. 1

#### Análisis Químico de la Torta de Semilla de Aceituno

<u>NUTRIENTE</u>	<u>TORTA DE SEMILLA DE ACEITUNO</u>	
	gms	%
Humedad.....	10.5	
Extracto etéreo.....	6.4	
Fibra cruda.....	6.2	
Nitrógeno.....	7.662	
Proteína (N x 6.25).....	47.9	
Ceniza.....	5.4	

### CUADRO No. 2

#### Contenido de Calcio y Fósforo en la Torta de Semilla de Aceituno

<u>NUTRIENTE</u>	<u>TORTA DE SEMILLA DE ACEITUNO</u>	
	mgs	%
Calcio.....	360	
Fósforo.....	1189	



En el cuadro No. 3 y figura No. 1 se describen los resultados de la extracción de proteínas a varias concentraciones de hidróxido de sodio.

### CUADRO No. 3

#### Parámetros constantes:

Tiempo de agitación:.....1 hora  
Relación Sólido/Líquido:.....1/100

Concentración de soda	ml. HCl consumidos	% N soluble extraído. (**)
.02 N .....	12.7 .....	52.58
.04 N .....	15.2 .....	62.48
.08 N .....	15.3 .....	63.10
.16 N .....	15.7 .....	64.95
.28 N .....	16.5 .....	68.25
.58 N .....	17.0 .....	70.11
1.50 N .....	18.2 .....	75.27
1.75 N .....	18.3 .....	76.92
2.00 N .....	18.8 .....	77.53
2.50 N .....	18.8 .....	77.53

$$(**) \% \text{ Nitrógeno soluble} = \frac{\text{ml. HCl} \times \text{factor ácido} \times \text{vol. solvente} \times 100}{\text{Peso muestra} \times \text{alícuota} \times \% \text{ N total en harina}}$$

Factor ácido: ..... 0.158  
% N total en harina:..... 7.662  
Volumen de solvente:.....100 ml.  
Peso de muestra:..... 1 gramo  
Alícuota:..... 50 ml.



En el cuadro No. 4 y figura No. 2, se describen los resultados obtenidos en la extracción de proteínas a diferentes tiempos de agitación.

#### CUADRO No. 4

##### Parámetros constantes:

Concentración de soda 2 N.

Relación Sólido/Líquido: 1/100

Tiempo de agitación (horas)	ml. HCl consumidos	% N soluble extraído (**)
0.5 .....	17.2 .....	70.93
1.0 .....	18.8 .....	77.53
1.5 .....	18.9 .....	77.94
2.0 .....	19.0 .....	78.35

$$(**) \% \text{ Nitrógeno soluble} = \frac{\text{ml. HCl} \times \text{factor ácido} \times \text{vol. solvente} \times 100}{\text{Peso muestra} \times \text{alícuota} \times \% \text{ N total en harina}}$$

Factor ácido:..... 0.158

% N total en harina:..... 7.662

Volumen de solvente:..... 100 ml.

Peso de muestra:..... 1 gramo

Alícuota:..... 50 ml.



En el Cuadro No. 5 y figura No. 3 se describen los resultados obtenidos en la extracción de proteínas, al aumentar la relación Sólido/Líquido, disminuyendo el volumen de hidróxido de sodio.

### CUADRO No. 5

#### Parámetros constantes:

Concentración de soda:..... 2 N

Tiempo de agitación:..... 2 horas

Volumen de solvente (ml)	Alicuota tomada (ml)	ml. HCl consumido	% N soluble extraído (**)
100 .....	50 .....	19.0 .....	78.35
75 .....	50 .....	24.6 .....	76.09
50 .....	30 .....	21.9 .....	75.26
20 .....	5 .....	9.1 .....	75.08
10 .....	1 .....	3.6 .....	74.23

$$(**) \% \text{ Nitroge no soluble} = \frac{\text{ml. HCl} \times \text{factor ácido} \times \text{vol. solvente} \times 100}{\text{Peso muestra} \times \text{alícuota} \times \% \text{ N total en harina}}$$

Factor ácido:.....0.158

% N total en harina:.....7.662

Peso de muestra:.....1 gramo



En el cuadro No. 6 y figura No. 4, se describen los resultados obtenidos en la precipitación de las proteínas extraídas, reduciendo el pH de la solución, es decir, neutralizando primero ésta y después tornándola al lado ácido por la adición de HCl concentrado.

CUADRO No. 6

pH	% Proteína no precipitada	% Proteína precipitada por diferencia
5.8	36.70	63.30
4.7	25.88	74.12
3.7	18.42	81.58
2.6	22.70	77.30
1.75	23.10	76.70

En los cuadros Nos. 7, 8 y 9, se describen las composiciones de las dietas basales utilizadas en los ensayos biológicos.

CUADRO No. 7

Composición de la dieta basal utilizada en el primer ensayo biológico, se usó proteína extraída sin refinar. Esta dieta contiene 10% de proteína.

INGREDIENTES	Gms %
Proteína extraída	19.2
Mezcla de minerales	4.0
Aceite de soya	5.0
Aceite de bacalao	1.0
Almidón de maíz	70.8
	<u>100.0</u>
Solución de vitaminas	5 ml.



CUADRO No. 8

Composición de la dieta basal utilizada en el segundo ensayo biológico, se usó proteína extraída sin refinar. Esta dieta fue enmascarada con azúcar. Contiene 10% de proteína.

INGREDIENTES

	Gms %
Proteína extraída .....	19.2
Mezcla de minerales .....	4.0
Aceite de soya .....	5.0
Aceite de bacalao .....	1.0
Almidón de maíz .....	35.4
Azúcar .....	35.4
	<u>100.0</u>
Solución de vitaminas .....	5 ml.

CUADRO No. 9

Composición de dieta usada en el tercer ensayo biológico. Se usó proteína extraída y refinada. Esta dieta contiene 10% de proteína.

INGREDIENTES

	Gms. %
Proteína extraída y refinada .....	18.4
Mezcla de minerales .....	4.0
Aceite de soya .....	5.0
Aceite de bacalao .....	1.0
Almidón de maíz .....	71.6
	<u>100.0</u>
Solución de vitaminas .....	5 ml.



CUADRO No. 10

RESULTADOS DE ENSAYOS BIOLÓGICOS							
DIETA	TRATAMIENTO	PESO INICIAL Gms.	AUMENTO EN PESO Gms.	ALIMENTO CONSUMIDO Gms.**	EFICIENCIA PROTÉICA	EFICIENCIA ALIMENTACION	MORTALIDAD
SEMILLA ACEITUNO	Proteína sin ref. dieta descrita en cuadro No.7	49	-8.8	119	---	--	0/8
	Proteína sin ref. dieta descrita en cuadro No.8	40	----	108	---	--	8/8
	Proteína refinada, dieta descrita en cuadro No.9	46	7.5	120	.62	16	0/6

$$\text{Eficiencia protéica} = \frac{\text{Peso ganado}}{\text{Proteína consumida}}$$

$$\text{Eficiencia de alimentación} = \frac{\text{Alimento consumido}}{\text{Peso ganado}}$$

\*\* 10% de Proteína.



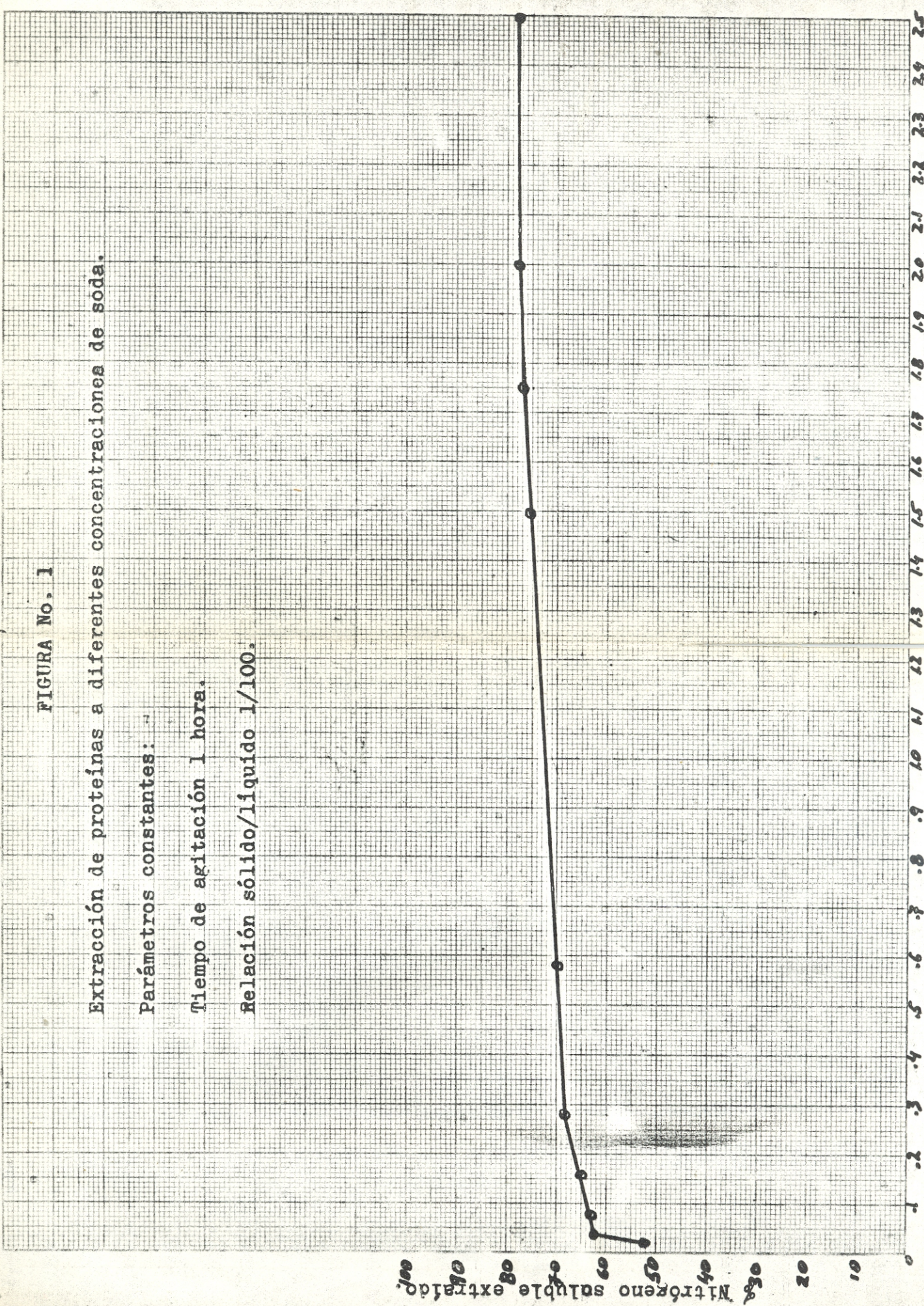
FIGURA No. 1

Extracción de proteínas a diferentes concentraciones de soda.

Parámetros constantes:

Tiempo de agitación 1 hora.

Relación sólido/líquido 1/100.



NORMALIDAD DE NaOH



% Nitrógeno soluble extraído.

FIGURA No. 2

Extracción de Proteínas a diferentes tiempos de agitación.

Parámetros constantes:

Concentración de soda: 2 N

Relación sólido/líquido: 1/100

TIEMPO DE AGITACION (horas)

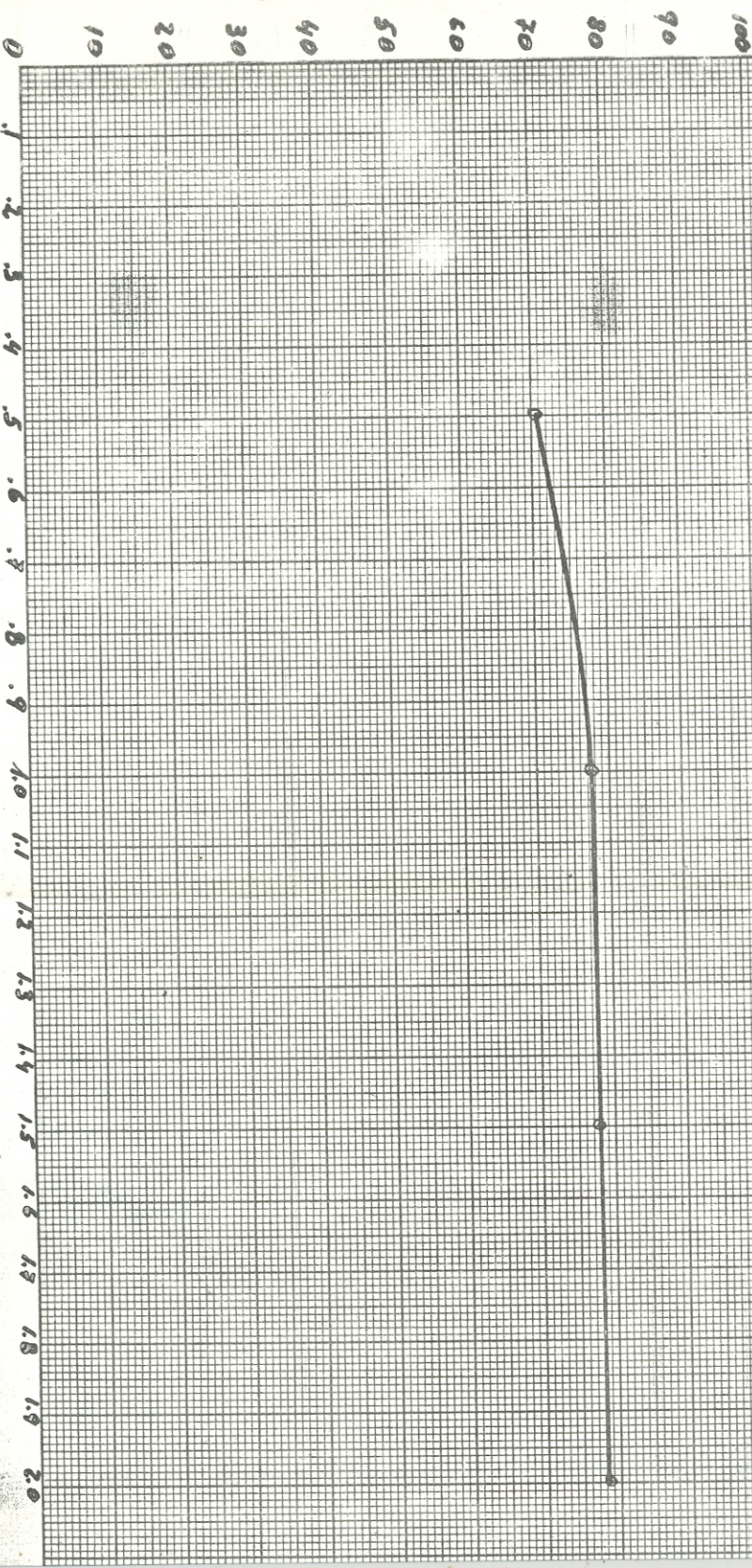




FIGURA N.º 3

Extracción de proteínas a diferentes relaciones sólido/líquido

Parámetros constantes:

Concentración de soda 2N

Tiempo de agitación 1 hora.

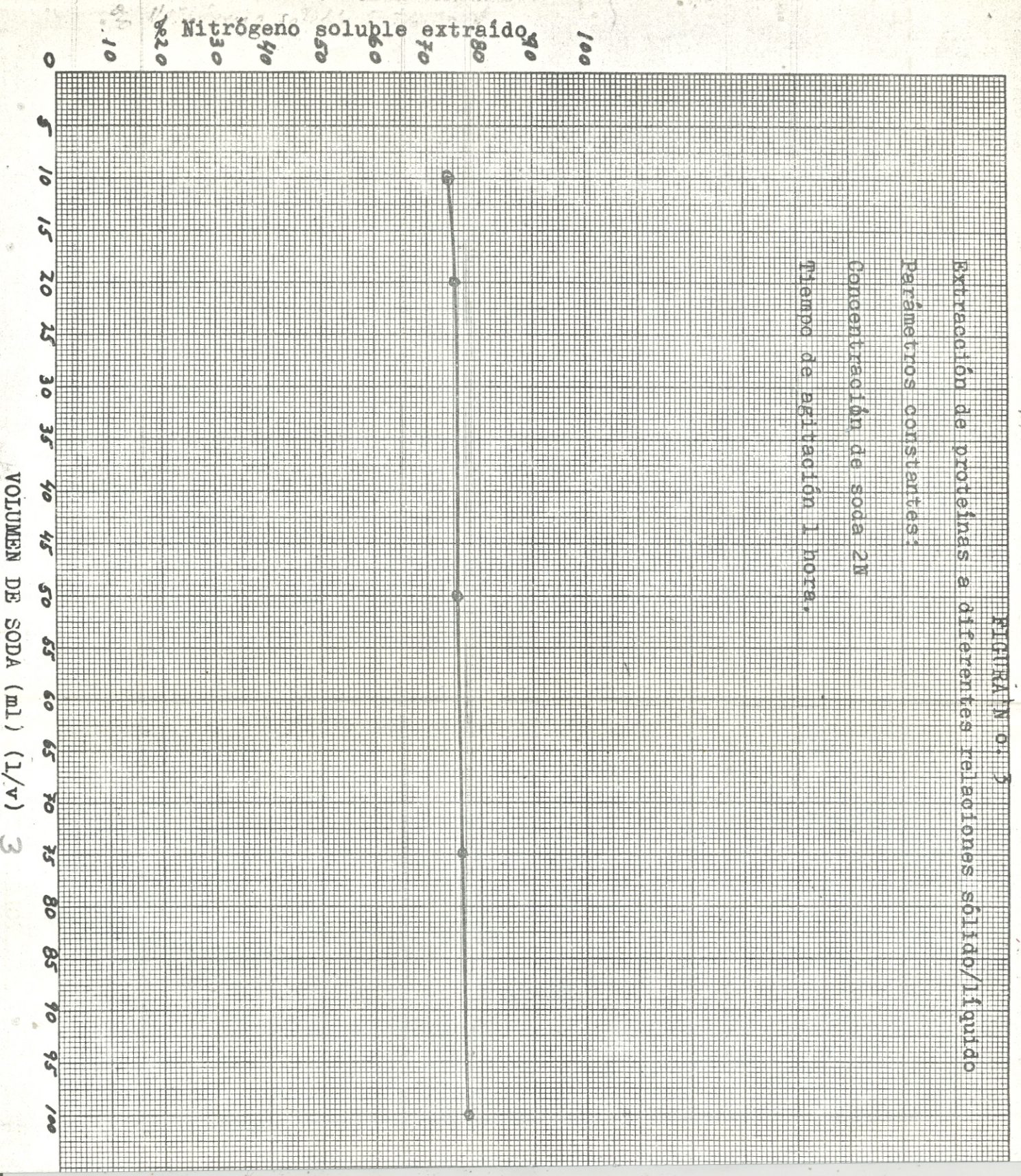




FIGURA No. 4

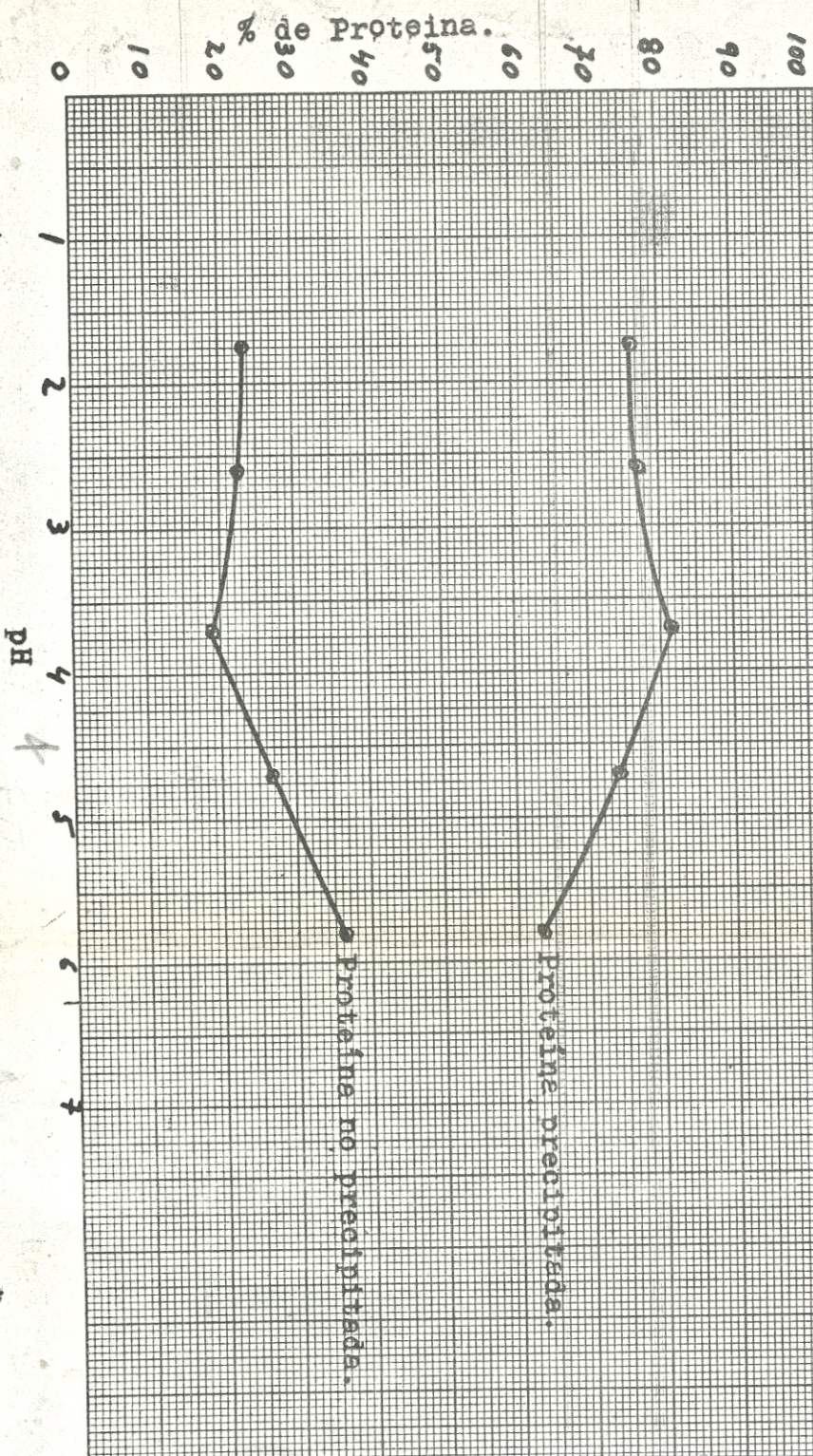
Precipitación de proteínas extraídas.

Parámetros constantes:

Concentración de sode 2N

Tiempo de excitación 1 hora

Relación sólido/líquido 1/100.





## VI. ANALISIS DE RESULTADOS

### a) Análisis Químico

Del cuadro No. 1, el cual presenta el análisis químico de la torta de semilla de aceituno, se observa que su contenido protéico es de 47.9%.

Dicho valor, es más elevado que el contenido protéico de otras tortas de semillas oleaginosas.

### b) Extracción de Proteínas

El cuadro No. 3 y figura No. 1, presenta que al aumentar la concentración de soda, aumenta el porcentaje de extracción de nitrógeno soluble, llegándose a un valor de 77.53% cuando la concentración de la soda es de 2.5 N, entre los valores 2 N y 2.5N no se observó incremento apreciable. Para esta experiencia se dejó como constantes, el tiempo de agitación de 1 hora y la relación sólido/líquido de 1/100.

El cuadro No. 4 y figura No. 2 presenta, que al aumentar el tiempo de agitación, aumenta el porcentaje de extracción de nitrógeno soluble, llegándose a un valor de 78.35% cuando el tiempo de agitación fue de dos horas. Entre los tiempos de una hora a dos horas de agitación, se observó un mínimo incremento de 0.82 % en la extracción.

Para esta experiencia, se dejó como constante, la concentración de soda 2 N y la relación sólido/líquido de



1/100.

El cuadro No. 5 y figura No. 3 presenta, que al aumentar el volumen de solvente, aumenta la extracción del nitrógeno soluble, pudiéndose observar que de la relación 1/10 a 1/100 hay un incremento del 3.30%.

El cuadro No. 6 y figura No. 4, presenta el máximo valor de nitrógeno precipitado, el cual fue de 81.58% a un pH de 3.7.

c) Ensayos Biológicos

En los cuadros Nos. 7, 8 y 9, se describen las dietas utilizadas en los diferentes ensayos biológicos.

En el cuadro No. 10, se resumen estos resultados, encontrándose que usando en la alimentación de las ratas, proteína sin refinar, la mortalidad fue de 0/8, pero se observó rechazo del alimento, lo que provocó pérdida en peso.

Basándose en el rechazo de la dieta anterior, debido al sabor amargo que tenía, se decidió hacer un nuevo ensayo, enmascarando dicho sabor amargo con la adición de 50% de azúcar reemplazando 50% del almidón que constituía la dieta, obteniéndose un grado de mortalidad de 8/8, a los ocho días de haber ingerido esta dieta. Esto desde luego, nos indica la presencia de agentes tóxicos en la proteína extraída.

Posteriormente, se usó dieta con proteína refinada y los resultados obtenidos fueron: Mortalidad: 0/6. Eficiencia de alimentación: 16. Eficiencia protéica: 0.62. Para este ensayo biológico se usaron únicamente 6 ratas; tres machos y tres hembras. Y el tiempo de duración fue de tres semanas.



## VII. CONCLUSIONES

- 1- Las condiciones óptimas encontradas en el presente trabajo para la extracción de proteínas son:

CONCENTRACION DE SODA CAUSTICA: 2 N  
TIEMPO DE AGITACION: 2 horas  
RELACION SOLIDO/LIQUIDO: 1/100

- 2- Para la precipitación de las proteínas se encontró que el pH óptimo es de 3.7
- 3- Los ensayos biológicos efectuados, indican que es necesario el refinamiento de las proteínas, y el método usado en el presente trabajo, se considera eficiente.
- 4- De los valores encontrados de eficiencia de alimentación y eficiencia protéica, se considera necesaria la suplementación del aislado protéico con otros materiales protéicos, para fines de alimentación.
- 5- Los valores óptimos encontrados en el presente trabajo para la extracción de proteínas a escala de laboratorio, deben modificarse al ser usados a escala de planta piloto.



## VIII. BIBLIOGRAFIA

- 1- Luis G. Elfas, Salvador Sánchez Loarca y Ricardo Bressani.  
Estudio Comparativo de Diferentes Métodos para Evaluación del Valor Protéico de Harinas de Semilla de Algodón.  
Inst. de Nut. de Centro América y Panamá (INCAP).  
Separa de archivos latinoamericanos de Nutrición, Vol. XIX, No. 3 1969.
- 2- Kirschen Bauer H.G.  
Fats and Oils. An Othline of their Chemistry and Technology.  
Reinhold Publishing Corp. N.Y. 1960.
- 3- Proccesed Plant Protein Foodstuffs. Altschul Chap. 1 pag. 1
- 4- Bressani R. L.G. Elfas & J.E. Braham.  
Cottonseed Protein in Human Foods Adv. Chem. series No. 57 pag. 75-100 1966
- 5- H. Neurath, J.P. Greenstein, F.W. Putnam and J.O. Erickson.  
Chem. revs. 34, 157. 1944.
- 6- Irvin E. Liener. Effect of Heat on Plant Proteins, in Processed Plant Protein Foodstuf. A.M. Altschul. ed. p. 79-129 Headmic press N.Y. 1958.
- 7- Primera Reunión Centro Americana de Grasas, Aceites



y Proteínas. ICAITI Sept. 1970.

- 8- E.M. Mrak and G.F. Stewart.  
Advances in Food Research. V. 16 1968. p. 23. Edited  
by C.O. Chichester, Academic Press, N.Y. Ande Lon-  
don.
- 9- Mann, G.E. Carter, F.L. Frampton, V.L. Watts, A.B.  
Johnson, Oil Chemist Soc. 39, 86-90 1962.
- 10- Bressani R., G. Elías y Edgar Braham.  
Cottonseed in Deuman Foods. Advances in Chemistry  
series, No. 57 World Protein Resources 1966.
- 11- M.L.V. Séverum, J. AM. Oil Chemist Soc. 30, 124.  
1953.
- 12- A.C. Cuckler Federation Proc. 9, 266, 1950.
- 13- E.A. Ham, H.M. Schafer, R.G. Deukewalkter, and N.  
G. Brink. J. Am. Chem. Soc. 76, 60-66, 1954.
- 14- A.O.A.C. Official Methods of Analysis. Assc. of  
official. Agr. Chemist, 9th ed. Washington D.C. 1960.
- 15- Fiske C.G. and Y. Subbarow.  
The Colorimetric Determination Phosphorus. J. Biol.  
Chem. 66, 375 400 1925
- 16- Lowry O.H. and J.A. López.  
The determination of Inorganic Phosphate in presence  
of Labile esters.
- 17- Food Technology Vol. 23, No. 10, 1969 p. 75-82.  
L.c. Berardi, W.H. Martínez and C.J. Fernández  
Cottonseed Protein Isolates, Two Steps Extraction Pro-  
cedures U.S.A.A. Southern Utilization R & D División

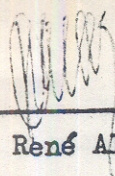


New Orleans Louisiana 70119.

18- Mario Lewy, Van Séverum, Dept. of Chem. Centro Nacional de Agronomía. The Journal of American Oil Chemist' Society, March 1953. Issue vol. XXX No. 3 p. 124-126. Aceituno Seed Fat.

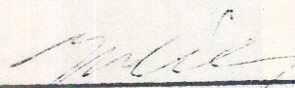
19- R. Jacquot y R. Ferrando. "Les Tourteaux" 1959.



  
\_\_\_\_\_  
Mario René Alvarez Batres

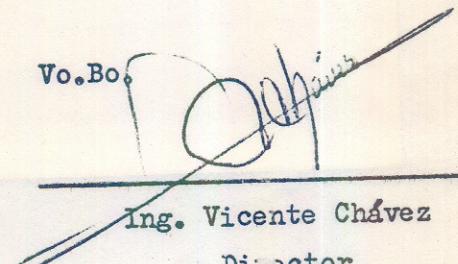
TESIS DE REFERENCIA  
NO  
SE PUEDE SACAR DE LA BIBLIOTECA  
BIBLIOTECA CENTRAL - USAC

Vo.Bo,

  
\_\_\_\_\_  
Ing. Rodolfo Solís Oliva

Asesor

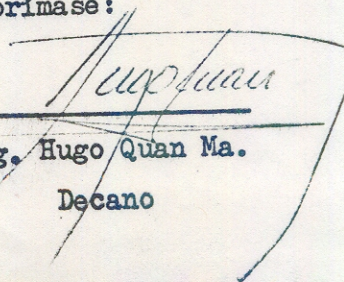
Vo.Bo,

  
\_\_\_\_\_  
Ing. Vicente Chávez

Director

Escuela de Ingeniería Química

Imprimase:

  
\_\_\_\_\_  
Ing. Hugo Quan Ma.

Decano