



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTILÁN

**OBTENCIÓN DE HARINA DE PLUMA DE POLLO DE ALTA DIGESTIBILIDAD
MEDIANTE HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERA EN ALIMENTOS

PRESENTA:

BERENICE OLIVERA RAMÍREZ

ASESORA: Q.B: LILIAN MORFÍN LOYDEN

COASESORA: DRA. DENE B CAMACHO MORFÍN

CUAUTITLAN IZCALLI ESTADO DE MEXICO 2016



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES**

U. N. A. M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
ASUNTO: VOTO APROBATORIO

M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE

ATN: M. EN A. ISMAEL HERNÁNDEZ MAURICIO
Jefe del Departamento de Exámenes Profesionales
de la FES Cuautitlán.



Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: Trabajo de Tesis

Obtención de harina de pluma de pollo de alta digestibilidad mediante hidrólisis enzimática.

Que presenta la pasante: Berenice Olivera Ramírez

Con número de cuenta: 403076358 para obtener el Título de la carrera: Ingeniería en Alimentos

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 07 de Mayo de 2015.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Q.B. Lilian Morfin Loyden	
VOCAL	Dra. Susana Patricia Miranda Castro	
SECRETARIO	Dra. Sara Esther Valdés Martínez	
1er. SUPLENTE	I.B.Q. Leticia Figueroa Villarreal	
2do. SUPLENTE	Dr. Enrique Martínez Manrique	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

IHM/mmgm*

AGRADECIMIENTOS

A DIOS:

Gracias a dios por haberme permitido llegar a esta etapa importante en mi vida, el permitirme terminar este ciclo y abrir otra nueva etapa a pesar de las dificultades que se han presentado me ha dado las cosas más importantes: salud, vida y familia.

A MIS PADRES MERCEDES Y EDILBERTO:

Por haberme dado la vida, esta conmigo en las buenas y en las malas, siempre cuento con ellos y se que no estoy sola, ellos son mi fortaleza, no hay palabras para agradecer todo lo que han hecho por mí, por su comprensión, consejos, gracias infinitas gracias.

A MIS HIJOS BENJAMIN Y ABISAI:

Ustedes han sido un motor muy fuerte en mi vida, he visto su amor aunque a veces creo no merecerlo, se que no he estado con ustedes todo el tiempo pero el esfuerzo valió la pena, los amo aunque a veces no lo diga o lo demuestre, espero que este trabajo los impulse en un futuro.

A MIS AMIGOS Y A MI FAMILIA:

Gracias por su amistad y su amor en los momentos difíciles que estuve a punto de renunciar , asi como también los mejores momentos , por su comprensión gracias por sus consejos, apoyo, palabras de aliento, en especial a Sarah, Moy, Javier los quiero mucho, por su cariño incondicional y sincero .

A MI ALMA MATER LA FES CUAUTITLAN:

Por darme la oportunidad de seguir creciendo profesionalmente, es un orgullo pertenecer a ella.

QB. LILIAN MORFIN LOYDEN:

Gracias por sus conocimientos, su tiempo, su paciencia en esta etapa, su experiencia.

Dra. DENEBA CAMACHO MORFIN:

Gracias por su apoyo, su tiempo, su paciencia, sus conocimientos, para la realización de esta tesis.

A LOS SINODALES:

Gracias por su tiempo, sus consejos, su asesoría, por su enseñanza tanto en la licenciatura como en estos momentos.

ÍNDICE

	Contenido	Página
	Resumen	1
	Introducción	2
Capítulo 1	Antecedentes	4
1.1	Descripción y características de la pluma de pollo	4
1.1.1	Producción y uso de la pluma de pollo en México	4
1.2	Composición química de la pluma de pollo	5
1.2.1	Proteínas	5
1.2.2	Tipos de proteínas	5
1.2.3	Estructura química de las proteínas	6
1.2.4	Clasificación de las proteínas por su forma	7
1.2.5	Queratina	7
1.2.6	Aminoácidos	8
1.2.7	Principales usos de los aminoácidos	9
1.3	Enzimas	10
1.3.1	Factores que influyen en la acción de las enzimas	10
1.3.2	Fuentes de obtención de enzimas	11
1.3.3	Tipos de enzimas	12
1.3.4	Usos de las enzimas en la industria alimentaria	14
1.3.5	Proteasa fungal	15

1.4	Antecedentes técnicos de la harina de pluma	16
1.4.1	Hidrólisis	17
1.4.2	Tipos de hidrólisis	18
1.4.3	Hidrólisis enzimática	18
1.5	Clasificación de procesos industriales	18
1.5.1	Autoclave continuas y discontinuas	18
1.6	Proceso de obtención de harina de pluma	20
1.6.1	Descripción del proceso	21
Capítulo 2	Objetivos	23
2.1	Objetivo general	23
2.2	Objetivos particulares	23
Capítulo 3	Materiales y métodos	25
3.1	Materia prima	25
3.1.1	Plumas	25
3.1.2	Actividad Preliminar 1	25
3.1.3	Actividad Preliminar 2	25
3.1.4	Tratamientos	28
3.2	Determinaciones	30
3.2.1	Actividad 1, Objetivo 2	30
3.3	Análisis Estadístico	31

Capítulo 4	Resultados y discusión	32
4.1	Composición química	32
4.2	Digestibilidad	34
4.3	Interacción entre tratamientos	34
4.4	Análisis de costos	35
	Discusión	37
	Conclusiones	39
	Anexo	40
	Referencias	43

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Contenido	Página
1.6	proceso de obtención del harina de pluma	20
3.1	Proceso de obtención de harina de pluma antes y después del autoclave	27

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	contenido	página
1.1	Composición química de la pluma antes de ser procesada	6
1.2	Clasificación de los aminoácidos esenciales y no esenciales	9
1.3	Algunos ejemplos de enzimas y su aplicación en los alimentos	14
2.1	Cuadro metodológico	24
3.1	Niveles de enzima por tratamiento	26

3.3	Determinaciones que se efectuaron a los productos de los diferentes tratamientos.	30
4.1	Composición de las harinas de plumas tratadas con autoclave a 1.2 Kg/cm ² a 120°C durante 20 minutos, seguido de incubación. Datos en base seca.	32
4.2	Composición química de las harinas de plumas tratadas con incubación a 45°C, seguido de autoclave a 1.2Kg/cm ² a 120°C durante 20 minutos en base seca.	33
4.3	Digestibilidades en pepsina 0.02%, en los tratamientos térmicos previo y posterior a la incubación con diferentes niveles de proteasa fungal. En base seca.	34
4.4	Análisis de la interacción de las concentraciones de enzima Proteasa fungal con los tratamientos térmicos.	35
4.5	Analisis de costos para la obtención de harina de pluma	36

OBTENCIÓN DE HARINA DE PLUMA DE POLLO DE ALTA DIGESTIBILIDAD MEDIANTE HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA

RESUMEN

Las plumas de pollos son un subproducto de la matanza de aves que representa entre 4-7% del peso vivo del animal. Pese a que tienen diferentes usos como: abono, en almohadas, adornos, alimentación animal, entre otros, generalmente se desechan, aunque son altas en proteína. Sin embargo, dicha proteína está formada por queratina, cuya digestibilidad es baja; por ello, la pluma se debe hidrolizar para su uso en la alimentación animal. Las alternativas para ello, son el uso de enzimas proteolíticas, hidrólisis químicas y tratamientos térmicos, o bien la combinación de lo anterior. Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue evaluar tratamientos para hidrolizar plumas de pollos, con el uso de una proteasa fungal. Por ello, se recolectaron plumas de pollos y se distribuyeron mediante un arreglo factorial 2x5, donde el primer factor fue el momento de tratamiento térmico, previo o posterior a la incubación enzimática; y el segundo factor los niveles de proteasa fungal (T, 0, 0.005, 0.05 y 0.2%), Los resultados de los tratamientos se compararon con un testigo al cual no se le dio ningún tratamiento, solo se molió (T). Para evaluar los tratamientos anteriores se determinó la composición química en términos de: extracto etéreo (EE), ceniza (C), proteína (Pc); además, digestibilidad en pepsina (DP). Se encontró que en cuanto a la composición química con tratamiento térmico previo o posterior a la incubación no hubo diferencias estadísticas significativas en los diferentes niveles de proteasa fungal. Con respecto a E.E los valores estuvieron entre 4 y 4.5%, en C de alrededor de 6 % y 85 % de Pc. En cuanto Dp, se encontró que con el tratamiento térmico previo a la incubación se obtuvo, para los niveles de proteasa fungal T, 0, 0.005, 0.05 y 0.2% respectivamente: 13, 25, 28, 22, 25 %. En el caso de el tratamiento térmico posterior a la incubación respectivamente 13, 15, 23, 19 y 17%.

Se concluye que el tratamiento térmico previo y la concentración de 0.005 % de proteasa fungal incrementaron la digestibilidad en pepsina.

Palabras clave: Hidrólisis de la proteína de pluma, digestibilidad proteica, proteasa fungal, hidrólisis enzimática, composición química de la pluma de pollo.

INTRODUCCIÓN

La industria avícola genera desechos que reciben un tratamiento o se desechan de acuerdo a las normas de cada país donde se producen. Muchos rastros de pollo de engorda tienen problemas para deshacerse de las plumas, ya que en general es muy restringido el uso directo que se le da a este subproducto (Del Águila, 2011). Las plumas son formaciones epidérmicas especiales de las aves, representan del 4 al 7% del peso del animal y aunque son un recurso alimenticio potencial, están constituidas por queratina. Para solucionar este problema se ha modificado la estructura de la queratina mediante diversos procedimientos, tales como la hidrólisis ácida o alcalina, tratamientos con vapor de agua saturado y alta temperatura (TECNA, 1980; Combariza, 2012), uso de bacterias de mezclas enzimáticas comerciales, entre otros tratamientos. El método de hidrólisis mediante enzimas contiene varias ventajas con respecto a otros, ya que ha permitido mejorar las características nutricionales del producto final y ha permitido ampliar al rango de uso por especies (Del Águila, 2011).

Uno de los principales problemas de procedimientos como la cocción a altas presiones es que no mejoran la digestibilidad, además de que, con los procedimientos de hidrólisis ácida o alcalina (ácidos o álcalis fuertes), ocasiona problemas de contaminación ambiental y en los animales (Macedo, *et al*, 2000).

Las enzimas son importantes en la industria de alimentos porque además de ser indicadoras de la eficiencia de los procesos térmicos utilizados en la elaboración de un producto, se emplean para aprovechar subproductos agroindustriales (UDEA, 2001); las enzimas regulan y catalizan reacciones bioquímicas específicas, como es el caso de las enzimas proteasas, las cuales son enzimas que hidrolizan las cadenas polipeptídicas de las proteínas del sustrato y se caracterizan por tener gran variedad de especificidades (Carrera, 2003).

Papadopulus (1985) trató las plumas con 0.2 y 0.6% de NaOH y *Maxtase* e indicó que los tratamientos de la enzima y el reactivo se adhirieron a los lazos de la cistina, se mejoró la solubilidad para la digestión por enzimas proteolíticas manejando diferentes condiciones de proceso como tiempo, enzima y concentración de NaOH.

(Latshaw *et al.*,1993) confirmaron que los tratamientos afectan el valor nutricional de el harina de pluma , provocando una disminuci3n en aminoacidos principalmente cistina y lisina.Asi como se incrementa el contenido de Lantionina y lisoalanina los cuales son t3xicos.

Se realizaron dos tratamientos con diferentes niveles de enzima, uno con incubaci3n antes del tratamiento t3rmico y el otro se realizo primero el tratmiento t3rmico seguido de la incubaci3n.

El objetivo de este trabajo es obtener harina de pluma de pollo de alta digestibilidad mediante hidr3lisis enzimática, en la cual no se afecten los valoresnutricionales.

CAPITULO 1. ANTECEDENTES

1.1. DESCRIPCIÓN Y CARACTERÍSTICAS DE LAS PLUMAS DE POLLO

El revestimiento corporal a base de plumas es la principal característica del organismo de las aves (*TECNA, 1980*). Aunque existen formas muy diferentes, todas las plumas están formadas de queratina, similar a la que forma pelo, escamas, picos, uñas o cuernos. Estas plumas crecen a partir de folículos de la epidermis (capa más externa de la piel), de forma análoga al pelo, cuyas células mueren después de formar la pluma, dejando la estructura queratinosa que conocemos. Lo interesante, especialmente para el vuelo, es la estructura jerárquica que forma la pluma y que es capaz de conferirle una gran rigidez con un peso mínimo. Del folículo se forma primeramente el raquis, que es eje principal. Después van apareciendo barbas a ambos lados del raquis: en realidad aparecen de forma helicoidal, y es sólo al desecharse la capa de células que protege la pluma en crecimiento cuando se extienden a ambos lados del raquis, tal y como las solemos ver. Pues bien, de estas barbas parten también a ambos lados unas bárbulas más pequeñas, y de estas pequeñas bárbulas salen también unos aún más pequeños ganchos o barbicelos, que se entrelazan de manera muy efectiva para formar el sólido estandarte de una pluma típica. Cuando salen estructuras a los lados de un eje principal, se dice en biología que es una estructura pinnada (*Sandoval, 1995*).

1.1.1. PRODUCCIÓN Y USOS DE LA PLUMA DE POLLO EN MÉXICO

La producción de pollo en México ha tenido un aumento considerable en los últimos años. De acuerdo con el Resumen Nacional Pecuario (*SIAP, 2010*) en México se produjeron 3, 369,915 toneladas de pollo en el año 2010. Esto representa un incremento de aproximadamente el 85 % con respecto al año 2000. Esta industria genera una gran cantidad de subproductos, entre los cuales destacan en proporción las plumas; se calcula que 7 % en peso de cada pollo es pluma (*González y Bauza, 2010*), por lo que en el año 2010 se generaron más de 200,000 toneladas de este residuo a

nivel nacional. Hasta años recientes, este material era considerado un desecho sin ningún valor comercial y por el contrario, para las empresas avícolas, su disposición representaba un alto costo (Salazar, 2012).

Por esta razón, se ha enfocado en buscar nuevos usos para las plumas de pollo, aprovechando sus propiedades como: insolubilidad en agua, alta resistencia mecánica y porosidad. Entre los usos potenciales de este material se encontraron: elaboración de papel, fabricación de plásticos de baja densidad, uso como medio filtrante muy fino e incluso el almacenamiento de hidrógeno como combustible. Otro uso importante dado a las plumas de pollo es la remoción de contaminantes en agua, las plumas de pollo son una intrincada red de fibras compuestas hasta en un 90 % de queratina y con elevada área específica la queratina es un sorbente atractivo de contaminantes como los metales pesados (Salazar, 2012).

1.2 COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA PLUMA

1.2.1 PROTEÍNAS

Las proteínas son compuestos formados por enlaces peptídicos, por lo tanto podemos decir que las proteínas están en un sistema que describe satisfactoria y claramente sus diferencias. Las proteínas están clasificadas en cuanto a su contenido de aminoácidos, y se clasifican de acuerdo a su composición, a su forma, solubilidad y a su función (Santos, 1995).

1.2.2. TIPOS DE PROTEÍNA

PROTEÍNAS SIMPLES: Son sustancias que por hidrólisis se obtiene únicamente aminoácidos, es decir, que son proteínas formadas exclusivamente por aminoácidos.

PROTEÍNAS CONJUGADAS: Contienen además de su cadena polipeptídica un componente que no es un aminoácido, denominado grupo prostético. Este componente puede ser un ácido nucleico, un lípido, un azúcar o simplemente un ión inorgánico (Santos, 1995).

1.2.3. ESTRUCTURA QUÍMICA DE LAS PROTEÍNAS

En la estructura molecular de proteínas se consideran diferentes niveles de organización: Linderstrom-Lang y sus colaboradores fueron los primeros en reconocer dichos niveles de organización en las proteínas y fueron ellos quienes introdujeron los términos de estructura primaria, secundaria y terciaria (*Quintero y López, 1987*).

En el cuadro 1.1 se muestra la composición química de la pluma de pollo sin procesar, destaca el alto nivel de proteína, formada por queratina (*González y Bauza, 2010*).

Cuadro 1.1. Composición química en base seca de las plumas de pollos antes de ser procesadas.

Componente	%
Materia seca	30
Proteína cruda	83
Extracto etéreo	0.95
Ceniza	3.3

Fuente: *González y Bauza (2010)*.

ESTRUCTURA PRIMARIA: Es la secuencia de aminoácidos que constituye la cadena peptídica; es decir el orden en el que están colocados los aminoácidos a lo largo de dicha cadena, esta estructura esta controlada genéticamente (*Vázquez y García, 2005*).

ESTRUCTURA SECUNDARIA: considerada como el grado de torsión que existe en la cadena peptídica, depende también del tipo y la secuencia de los aminoácidos, Linus Pauling, describió dos tipos de estructuras secundarias en las proteínas : la α hélice y la β configuración de la hoja plegada (*Vázquez y García, 2005*).

ESTRUCTURA TERCIARIA Se dobla varias veces sobre si misma y se establece así la estructura en tercera dimensión o de la proteína, esta estructura es de fundamental

importancia para la acción catalítica de las enzimas, ya que es la que determina la configuración de la molécula y por tanto, la posibilidad de unión de la enzima con el sustrato (Vázquez y García, 2005)

1.2.4. CLASIFICACIÓN DE LAS PROTEÍNAS POR SU FORMA

Las proteínas se clasifican según su forma estructural, las podemos agrupar:

a) Proteínas fibrilares o fibrosas

b) Proteínas globulares

Proteínas fibrilares: Estas proteínas las encontramos principalmente en el reino animal, y son insolubles en agua, muy resistentes a la digestión de enzimas proteolíticas. Estas proteínas existen en forma de moléculas alargadas como el colágeno, queratina y la seda. (Santos, 1995).

Proteínas globulares: se dividen en seis categorías y, en general, estos son:

Casi redondeada en su contorno

Con la estructura terciaria o cuaternaria

En su mayoría solubles, si son pequeñas (disminuye la solubilidad y aumenta la coagulabilidad y aumento de tamaño con el calor), como es el caso de las enzimas (Santos, 1995).

1.2.5. QUERATINA

La Queratina, se caracteriza por ser una proteína completamente insoluble a pH 7 y a temperatura ambiente, presentando puentes disulfuro entre las cisteínas, que le dan gran estabilidad a la molécula y la hacen indigerible (González y Bauza, 2010).

Es una proteína con una estructura secundaria, es decir, la estructura primaria de la proteína, se pliega sobre sí misma, adquiriendo tres dimensiones. Esta forma nueva es un espiral, llamándose así proteína α -hélice. Esta estructura se mantiene con esa forma tan característica gracias a los puentes de hidrógeno y a las fuerzas hidrofóbicas, que

mantienen unidos los aminoácidos de dicha proteína. Todo esto unido le da a la proteína esa especial dureza característica (*Calderón, 2000*).

Pertenece a las proteínas fibrosas con formación de puentes disulfuro intramolecular resultando un material con características de conformación rígida (*Moore et al., 2006*).

1.2.6. AMINOÁCIDOS.

El cuadro 1.2 muestra la clasificación de los aminoácidos en esenciales y no esenciales. En el caso de los primeros, cuerpo humano no tiene los mecanismos para sintetizarlos; por otro lado, aquellos aminoácidos que el cuerpo humano es capaz de sintetizar, son los llamados no esenciales (*Vázquez y García, 2005*).

1.2.7. PRINCIPALES USOS DE LOS AMINOÁCIDOS

Como resultado de los constantes desarrollos de la biotecnología moderna se espera que la producción de aminoácidos aumente, entre estos desarrollos se encuentran: (Quintero y García, 1999).

Cuadro 1.2 Clasificación de los aminoácidos esenciales y no esenciales

Esenciales	No esenciales
Isoleucina	Alanina
Leucina	Tirosina
Lisina	Acido Aspártico
Metionina	Cisteína
Fenilalanina	Acido glutámico
Treonina	Glutamina
Triptófano	Glicina
Valina	Prolina
	Serina
	Asparragina
	Arginina
	Histidina

Fuente: Vázquez y García (2005)

1) Aislamiento y construcción de cepas hiperproductoras (vía ingeniería genética) superiores a las actuales que han sido obtenidas por métodos de selección de organismos desregulados.

2) Procesos combinados de síntesis química, enzimática y microbiana.

3) Mejoramiento de los procesos de fermentación, aislamiento óptimo de condiciones de fermentación y control de proceso.

1.3. ENZIMAS

Las enzimas tienen todas las características físicas y químicas de las proteínas, en cuanto a su composición no son muy diferentes de las demás proteínas presentes en la naturaleza y constituyen una pequeña parte de nuestra ingesta proteica diaria. Sin embargo, al contrario que otros grupos de proteínas, las enzimas son catalizadores altamente específicos de las miles de reacciones químicas que necesitan los organismos vivos, son altamente selectivos para un número limitado de sustratos, dado que los sustratos deben unirse estereoespecífica y correctamente al centro activo antes de que la catálisis se produzca.

Las enzimas controlan por lo tanto el sentido de las reacciones, dando lugar a productos estereoespecíficos que pueden ser muy valiosos para los alimentos, nutrición, la salud y los compuestos esenciales para la vida (*Fenema, 1995*).

1.3.1. FACTORES QUE INFLUYEN EN LA ACCIÓN DE LAS ENZIMAS

Efecto de la temperatura

Es bien conocido que la gran mayoría de las proteínas son desnaturalizadas por el agua hirviendo y algunas a temperaturas mas bajas, hasta 30°C y que pueden ser conservadas a baja temperatura (de 0° a -40°C) sin gran alteración de su estructura. Esto nos permite apreciar la influencia de la temperatura sobre la actividad de las enzimas.

La reacción de una enzima al aumento de temperatura es el resultado de dos factores competitivos principales: la estimulación de la velocidad de la reacción química y la desnaturalización progresiva de la enzima por la acción del calor (Fenema, 1995).

Efecto del pH

El pH tiene un efecto muy notable sobre la actividad de la mayoría de las enzimas la pepsina, la peroxidasa, la tripsina y la fosfatasa alcalina tienen una actividad máxima un pH alrededor de 2, 6,8 y 10 respectivamente (Fenema, 1995).

1.3.2. FUENTES DE OBTENCIÓN ENZIMAS

Durante siglos el hombre ha utilizado los microorganismos en su beneficio sin saber que las transformaciones obtenidas se debían a la función de determinadas enzimas presentes en los organismos utilizados. Así, antes de que se conocieran las bases bioquímicas de los procesos biocatalizados, la capacidad catalítica de las enzimas presentes en los microorganismos como la levadura *Saccharomyces cerevisiae* o las bacterias lácticas se han utilizado desde hace siglos en la producción de alimentos como el vino, la cerveza, el queso, el vinagre o el pan (Arroyo *et al.* , 2014).

En la actualidad son numerosos los procesos biotecnológicos que se llevan a cabo mediante la utilización de células o de sus enzimas aisladas, siendo un campo con grandes perspectivas de futuro (Arroyo *et al.*, 2014).

Hasta ahora, los microorganismos han sido la principal fuente de enzimas de aplicación industrial, ya que presentan numerosas ventajas técnicas y económicas en comparación con las enzimas de origen animal o vegetal. Por un lado, los microorganismos son una fuente muy versátil de enzimas, pudiéndose aislar nuevos microorganismos productores mediante cribado o “screening” a partir de distintas fuentes naturales y/o de colecciones tipo ATCC, DSMZ, CECT, etc. (Arroyo *et al.*, 2014).

Los microorganismos producen una amplia variedad de enzimas potencialmente útiles, muchas de las cuales son excretadas al medio. La mayoría de las enzimas extracelulares son producidas por organismos pertenecientes a dos géneros: *Bacillus* y

Aspergillus, que en su mayoría son del tipo hidrolítico, por fermentación en cultivos semi-sólidos, sumergidos, extracción de tejidos ya sea en plantas o animales bajo condiciones controladas

A diferencia de las plantas y los animales, la producción de las enzimas microbianas requiere poca superficie, su rendimiento es predecible y no presenta oscilaciones, y su disponibilidad es continua. Finalmente, los microorganismos tienen velocidades de crecimiento y de producción de enzimas muy altas, por lo que los procesos fermentativos son los más empleados en la producción de enzimas microbianas de uso biotecnológico (Arroyo *et al.*, 2014).

1.3.3. TIPOS DE ENZIMAS

A continuación se mencionan los siete tipos principales de enzimas, basados en la reacción química catalizada (Fenema, 1995; Sáenz, 2006)

Oxido-reductasas: Oxidan o reducen sustratos por transferencia de hidrogeno, electrones o mediante oxígeno.

Transferasas: Eliminan grupos (sin incluir el H) de los sustratos y los transfieren a moléculas aceptoras (sin incluir el agua).

Hidrolasas: Catalizan reacciones en las que el agua participa en la ruptura de enlaces covalentes de un sustrato con la adición concomitante de elementos del agua a los elementos de ese enlace.

Liasas: Eliminan grupos de sustratos (no por hidrólisis) dejando un doble enlace, o que por el contrario adicionan grupos a dobles enlaces.

Isomerasas: Llevan a cabo la isomerización de un sustrato.

Ligasas: Catalizan la unión de dos moléculas acoplada a la ruptura de un enlace pirofosfato como el ATP.

Proteasas: Son endopeptidasas que actúan sobre las proteínas, hidrolizando enlaces peptídicos, estas pueden ser: metaloproteasas, que trabajan a pH óptimo de 7.0, esterasas, que son enzimas con alta actividad estereolítica y baja actividad proteolítica y serin proteasas (proteasas alcalinas) que tienen residuo serina en /o cerca al sitio activo (Sáenz, 2006).

Desde 1967 se conoce que las cepas a pH por encima de 10 sintetizan enzimas que poseen alta actividad proteolítica son activas y estables hasta un pH de 12, temperaturas relativamente altas y poseen puntos isoelectricos extremadamente básicos (Sáenz, 2006).

1.3.4 USO DE LAS ENZIMAS EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA

Hoy en día la tecnología enzimática ocupa un lugar preponderante dentro de la biotecnología y específicamente dentro del sector alimentario (Quintero y García, 1999). A continuación se observan algunas enzimas utilizados en la industria de los alimentos.

Cuadro 1.3 Algunos ejemplos de enzimas y su aplicación en la industria de los alimentos

Enzima	Aplicación
Glucosa Isomerasa	Su aplicación en la isomerización de glucosa no fue posible si no hasta que se logró obtener una enzima que operase en medio no alcalino (para evitar la isomerización espontánea de glucosa a psicosa)
α –amilasa termorresistente	Gelatinización y licuefacción simultánea del almidón incrementando la productividad
Papaína	Aplicación en el ablandamiento de carnes
α –amilasa fungal	Aplicación en panadería
Lactasa de levadura	Aplicación en leche por el pH óptimo de actividad
Lactasa fungal	Aplicación en suero de leche ácido

Fuente: Quintero y García ,1999

1.3.5 PROTEASA FUNGAL

Es una proteasa de grado alimenticio obtenido por medio de la fermentación controlada de *Aspergillus oryzae*. Es básicamente una mezcla proteasas ácidas, neutras y alcalinas que demuestran actividad exo-peptidasa liberan aminoácidos por medio de la hidrólisis de las cadenas polipeptídicas en su parte terminal. (Enmex, 2010)

Las endopeptidasas hidrolizan los enlaces peptídicos internos de la proteína, liberando polipéptidos de diferentes longitudes menores de estas, que hidrolizan los enlaces peptídicos primarios de las moléculas proteicas (Enmex, 2010; Vázquez y García, 2005).

La amplia especificidad de sustratos sobre los que actúa la PROTEASA FUNGAL la hace adecuada para hidrolizar fácil y eficientemente la mayoría de las proteínas solubles, tales como caseína, hemoglobina, gelatina, harina de soya, harina de pescado, otras proteínas vegetales y animales (Enmex, 2010; Vázquez y García, 2005)

La Proteasa fungal no requiere activadores ni cofactores para su completa actividad enzimática (Enmex, 2010).

Efecto de la temperatura: El rango óptimo de la temperatura para esta enzima es de 50-55°C, proporciona una mejor estabilidad de la enzima a una temperatura de 40-50°C a un pH de 7.0 (Enmex, 2010).

En este trabajo se realizó la hidrólisis enzimática para la obtención de harina de pluma de pollo, aprovechando tanto las características de la pluma, como las enzimas proteasas que ya se han utilizado en alimentos, para obtener una mayor digestibilidad, así como contar con una opción mas para la industria alimentaria, el aprovechar materias primas con potencial y disminuir la contaminación.

1.4 ANTECEDENTES TÉCNICOS DE LA HARINA DE PLUMA

Harrap, B.S y Wood (1964) determinaron en sus investigaciones que el 85-90% de la proteína de pluma es α -queratina, que son ricas en aminoácidos que poseen grupos R-hidrofóbicos como fenilalanina, valina, metionina, alanina, isoleucina.

Proporcionan enlaces disulfuro transversales entre las cadenas polipeptídicas, enlaces covalentes y por tanto muy fuertes, se debe a la presencia de la cisteína que le da estabilidad a la proteína de la pluma, que explican la estabilidad de la estructura (Del Águila, 2011).

Para que las plumas puedan ser usadas, deben ser sometidas a un proceso de hidrólisis para romper los enlaces disulfuro (González y Bauza, 2010). Por muchos años en la década de los 60's se vienen usando métodos térmicos con alta presión para este fin, en el cual las plumas son sometidas a temperatura de 150-160°C hasta por 60 minutos con una presión de 3.5 bares, obteniéndose finalmente harina de pluma con alto nivel de proteína bruta pero que presenta un pobre balance de aminoácidos, baja disponibilidad y elevada variabilidad, daño provocado por las condiciones de proceso (Del Águila, 2011).

Son diversos los métodos aplicados con el objetivo de mejorar la digestibilidad: métodos físicos, usando diferentes combinaciones de presión, temperatura y tiempo; métodos químicos aplicando diferentes concentraciones de ácidos y bases fuertes, y en los últimos años se ha profundizado en la investigación de métodos biológicos utilizando enzimas (González y Bauza, 2010).

Papadopoulos (1985) trató las plumas con 0.2 y 0.6% de NaOH y *Maxtase* e indicó que los tratamientos de la enzima y el reactivo se adhirieron a los lazos de la cistina, se mejoró la solubilidad y susceptibilidad para la digestión por enzimas proteolíticas; evaluó los efectos del tiempo de autoclave (30-70 min) y niveles de humedad (50-70%) en la calidad de la pluma, los resultados indicaron que diferentes condiciones de proceso como tiempo, enzima y concentración de NaOH mejoraron la digestibilidad de la enzima y la solubilidad de la proteína de la harina de pluma. El experimento demostró

que la cistina era degradada durante el proceso resultando en la formación inusual del aminoácido llamado Lantionina.

(Latshaw *et al.*, 1993) confirmaron que los tratamientos afectan el valor nutricional de la harina de pluma, específicamente pueden provocar disminución en la disponibilidad de aminoácidos, principalmente cistina y lisina. Así como se incrementa el contenido de lantonina y lisoalanina los cuales son tóxicos.

1.4.1HIDRÓLISIS

En los hidrolizados de proteína se potencian diversas características funcionales, tales como viscosidad baja, mayor capacidad de agitación, dispersión y alta solubilidad, que les conceden ventajas para el uso en muchos productos alimenticios, respecto a las proteínas originales (Benítez *et al.*, 2008)

El grado de hidrólisis es la propiedad fundamental de un hidrolizado y va a determinar en gran medida las restantes características del mismo y por tanto su posible uso. Se define como el porcentaje de enlaces peptídicos rotos en relación a la proteína original. El grado de hidrólisis final está determinado por las condiciones utilizadas, siendo éstas, la concentración de sustrato, la relación enzima/sustrato, el tiempo de incubación y las condiciones fisicoquímicas tales como el pH y la temperatura. Otro factor que también va a determinar el grado de hidrólisis es la naturaleza de la enzima, caracterizada por su actividad específica y tipo de actividad. Así, la naturaleza de la enzima usada no sólo va a influir en el grado de hidrólisis, sino también en el tipo de péptidos producidos. Los hidrolizados que se producen para su uso en alimentación se pueden agrupar en: hidrolizados con bajo grado de hidrólisis, entre el 1% y el 10%, para la mejora de las propiedades funcionales; hidrolizados con grados de hidrólisis variable para su uso como saborizantes y por último, hidrolizados extensivos, con grado de hidrólisis superior al 10%, para su uso en alimentación especializada (Benítez *et al.*, 2008).

1.4.2 TIPOS DE HIDRÓLISIS

1.4.3 HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA

La hidrólisis proteica se realiza normalmente en un reactor, con control de agitación, pH, temperatura y tiempo del proceso. El sustrato se disuelve o re suspende en agua hasta que el pH y la temperatura se estabilizan; a continuación se agrega la proteasa dando inicio a la hidrólisis. A medida que ésta progresa se produce una disminución del pH debido a la rotura de los enlaces peptídicos. En los casos de hidrólisis enzimática el pH debe ser mantenido en el óptimo de la enzima mediante la adición de base diluida. Para finalizar la hidrólisis proteica la enzima puede ser inactivada con calor, mediante una disminución del pH o con una combinación de ambos. O también puede ser retirada del medio mediante filtración y la proteína finalmente precipitada (Benítez *et al.*, 2008). El proceso de obtención de harina de pluma se observa en el diagrama 1.6.

1.5 CLASIFICACIÓN DE PROCESOS INDUSTRIALES

1.5.1 AUTOCLAVES CONTINUAS Y DISCONTINUAS.

Escoger una autoclave tiene incidencia en mano de obra necesaria.

La comparación para consumo de energía es favorable a la opción de autoclave en continuo, mientras que para los equipos discontinuos, cada ciclo de funcionamiento precisa la purga y calentamiento del autoclave, en cambio un equipo continuo que permanece térmicamente en estado estacionario, consume menos agua de enfriamiento puesto que solo debe enfriarse el producto y no el autoclave (Mafart, 1994)

La ventaja de los procesos discontinuos es su polivalencia: no hay ningún obstáculo para llenar la cesta de una autoclave estática y discontinua de todo tipo de material y formas variadas.

Un autoclave continuo esta adaptado a un único tipo de producto, incluso a una sola forma, son ideado para importantes caudales y tiempo de esterilización elevados (Mafart, 1994).

Un autoclave discontinuo tiene muy pocos elementos mecánicos o motores, tiene como ventaja mayor fiabilidad y facilidad de mantenimiento (*Mafart, 1994*).

1.6. PROCESO DE OBTENCIÓN DE HARINA DE PLUMA

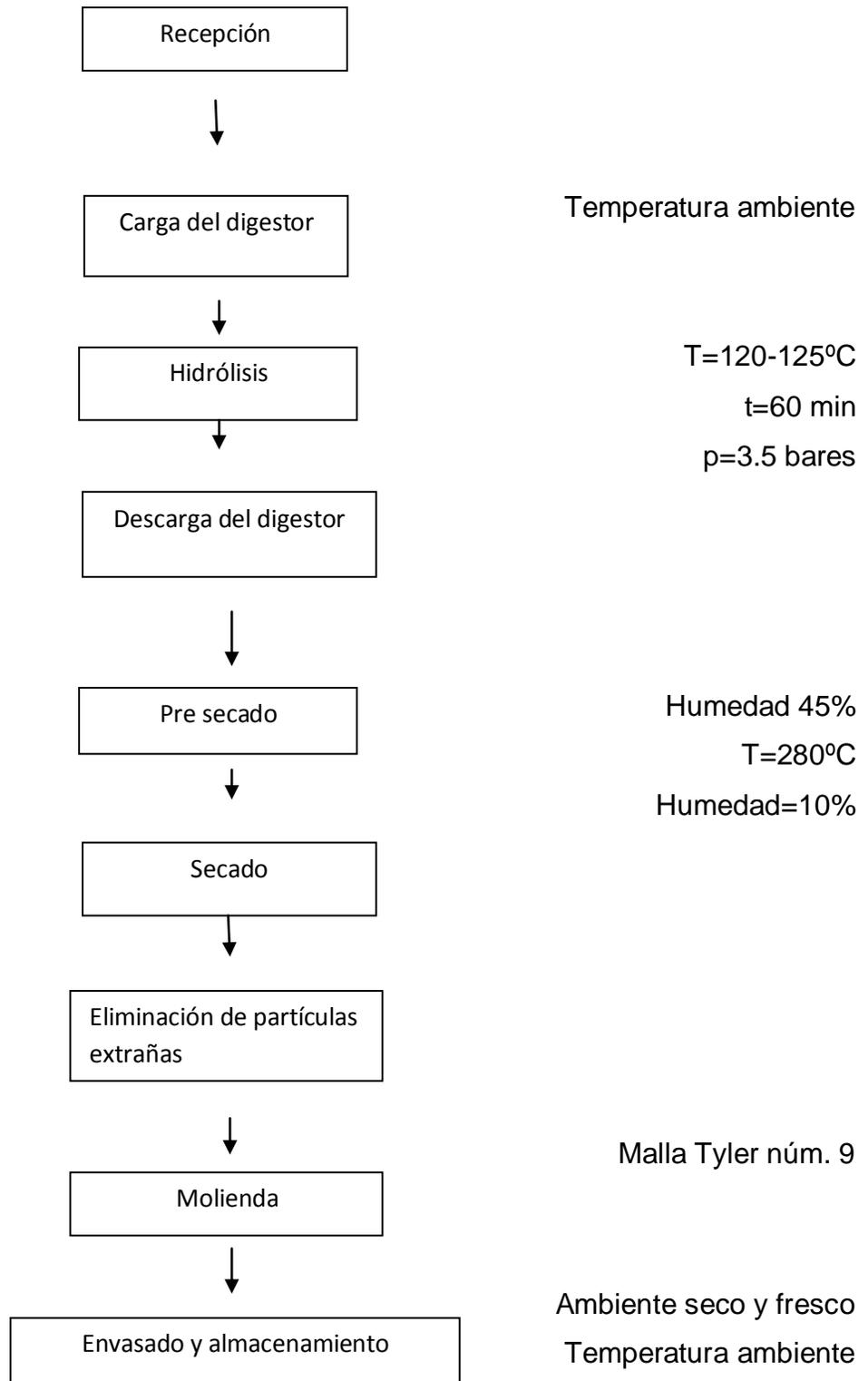


Figura 1.1 Diagrama de control del proceso de la harina de pluma (Parzaneza, 2011).

1.6.1 DESCRIPCIÓN DEL PROCESO

Recepción de materia prima

Las plumas son transportadas desde la planta de faena hasta la planta de subproductos avícolas. Esto puede realizarse mediante transporte hidráulico si es que las plantas se encuentran dentro del mismo establecimiento, adyacentes entre sí. Una vez que ingresan a la planta de procesamiento las plumas deben ser filtradas mediante un proceso hidrodinámico y debe quitarse el exceso de agua. Se recomienda que sean procesadas rápidamente para evitar que se deteriore su calidad organoléptica y aumente significativamente su carga bacteriana (Parzaneza, 2011; Combariza, 2012).

Carga del digestor

Esta es una etapa lenta del proceso ya que completar la carga de un digestor puede llevar una hora aproximadamente, dependiendo del volumen del equipo. El equipamiento comúnmente consiste de un tornillo sin fin mediante el cual son transportadas las plumas hacia el interior del digestor. En algunos casos se cuenta con un sistema de bombeo que permite separar la sangre y otros residuos líquidos que pudieran haber permanecido con las plumas a procesar (Parzaneza, 2011).

Hidrólisis

Esta etapa se lleva a cabo dentro de los digestores o cookers. Como se mencionó es fundamental fijar las condiciones de presión, temperatura y tiempo más adecuados para alcanzar mejores resultados. El proceso consiste en romper los enlaces disulfuro presentes en la estructura proteica de las plumas. Aproximadamente un 85 % de la proteína de las plumas es queratina. Esta se caracteriza por ser insoluble en agua y en soluciones salinas diluidas, además de presentar un nivel de digestibilidad muy bajo (Parzaneza, 2011; Combariza, 2012).

Pre-secado

Consiste en disminuir la humedad del hidrolizado de plumas resultante de la etapa anterior. Generalmente se lleva a cabo en el mismo equipo digestor donde se realiza la hidrólisis una vez que esta finalizó. Luego de este pre-secado la humedad del producto suele ser de 45 % aproximadamente (Parzaneza, 2011).

Descarga del digestor

Una vez concluido el tiempo necesario para que se efectúe el pre-secado del hidrolizado de plumas los digestores se abren y se procede a la descarga. El producto es transportado generalmente por un tornillo sin fin hacia el secador (Parzaneza, 2011; Combariza, 2012).

Secado

El objetivo es disminuir la humedad de la harina hasta porcentajes menores o iguales al 10%. Para ello el hidrolizado pasa a un secador de anillos que opera a condiciones de temperatura próximas a los 280°C (Parzaneza, 2011).

Eliminación de partículas extrañas

La harina con su porcentaje de humedad final es pasada por una zaranda que permite separar de ella partículas extrañas. Con esto se logra aumentar la calidad de la harina ya que la presencia de impurezas en el producto final disminuye su aceptabilidad, utilidad y por lo tanto su valor en el mercado (Parzaneza, 2011).

Molienda

Esta etapa consiste en determinar la granulometría final de la harina. Para ello el hidrolizado de plumas se lleva hacia un molino de martillos donde es pulverizado. Luego este material se pasa por un tamiz donde se eliminan las partículas de mayor tamaño quedando un producto uniforme, es decir de un único tamaño de partícula. El material más grueso es re circulado e introducido nuevamente al proceso productivo (Parzaneza, 2011).

Envasado y almacenamiento

La harina de plumas es envasada en bolsones de distinto peso, generalmente de una tonelada ya que se utiliza como materia prima de otros procesos industriales. Las bolsas que contienen el producto terminado se rotulan y se almacenan en una zona destinada y acondicionada para tal fin (Parzaneza, 2011, Combariza, 2012).

CAPÍTULO 2

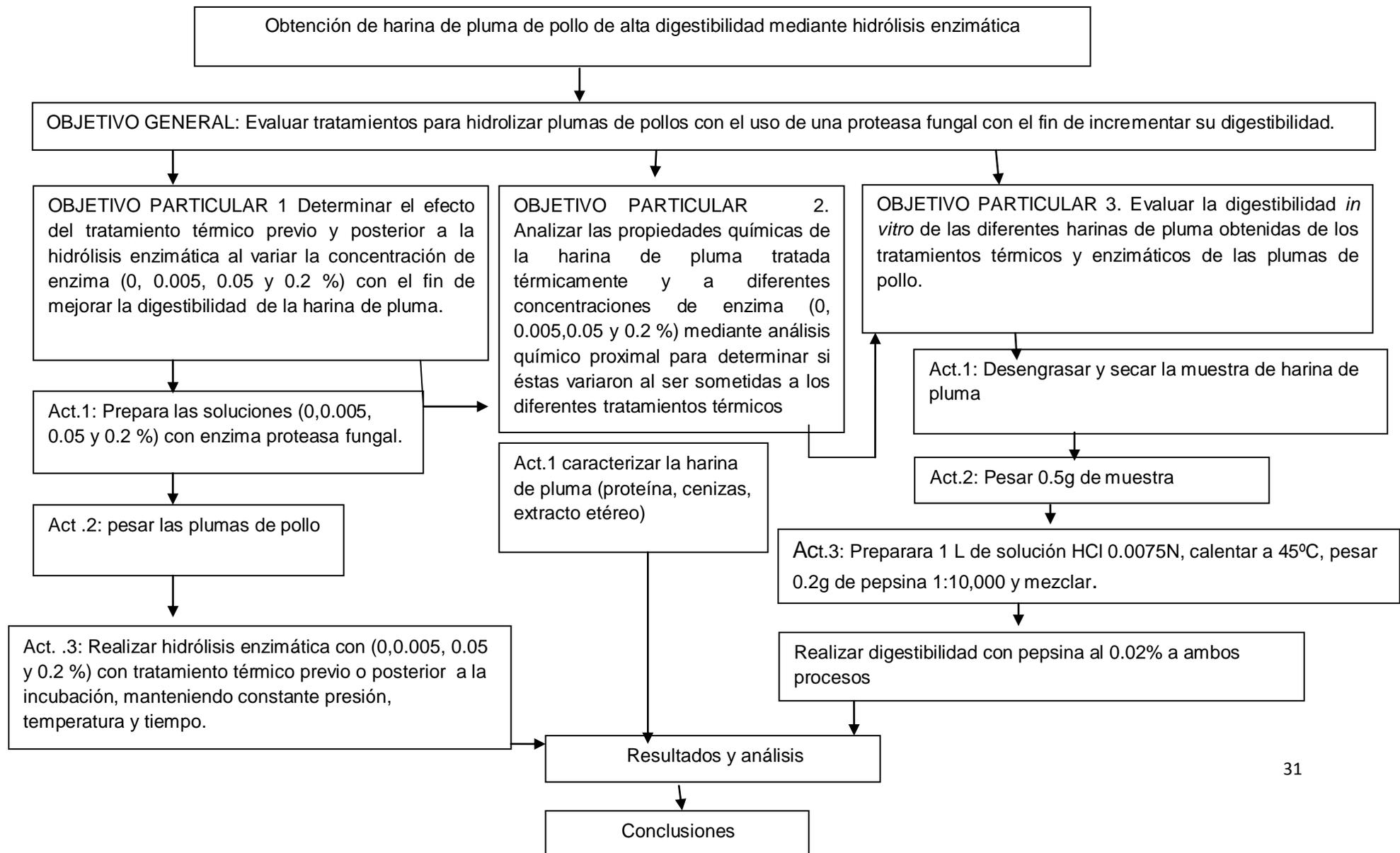
2.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar tratamientos para hidrolizar plumas de pollos con el uso de una proteasa fungal con el fin de incrementar su digestibilidad.

2.1.2 OBJETIVOS PARTICULARES

- 1) Determinar el efecto del tratamiento térmico previo y posterior a la hidrólisis enzimática, al variar la concentración de enzima (0, 0.005, 0.05 y 0.2%) con el fin de mejorar la digestibilidad de la harina de pluma.
- 2) Analizar las propiedades químicas de la harina de pluma tratada térmicamente y a diferentes concentraciones de enzima (0, 0.005, 0.05 y 0.2 %) mediante análisis químico proximal para determinar si estas variaron al ser sometidas a los diferentes tratamientos térmicos.
- 3) Evaluar la digestibilidad *in vitro* de las diferentes harinas de pluma obtenidas de los tratamientos térmicos y enzimáticos de las plumas de pollo.

CUADRO METODOLÓGICO



CAPITULO 3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Materia prima

3.1.1 Plumas

Se utilizaron plumas de pollo, las cuales se obtuvieron de un rastro SIN NOMBRE ubicado en el municipio de Teoloyucan, las plumas fueron transportadas hasta el laboratorio de Bromatología, ubicado en el edificio L8 dentro de la FES-C campo 4; cada vez que las plumas fueron recibidas se les siguió el proceso de hidrólisis inmediatamente, para evitar deterioro en su calidad y alteración en la composición química.

3.1.2 Actividades preliminar 1

Preparación de las soluciones con la enzima proteasa fungal

Para la preparación de las soluciones se tomaron como base los porcentajes recomendados por el fabricante: 0.01 a 0.1%, para la materia prima tal cual, (Enmex, 2010).

Las soluciones con la enzima proteasa fungal se prepararon de la siguiente manera:

1) Se pesaron, en una balanza analítica *OHAUS*[®], en forma independiente las cantidades correspondientes a las concentraciones que se muestran en el cuadro 3.1; cada concentración se disolvió en forma independiente en 1 Litro de agua destilada, previamente calentada en una parrilla eléctrica *CIMAREC*[®], a temperatura de 30°C.

3.1.3 Actividades preliminar 2

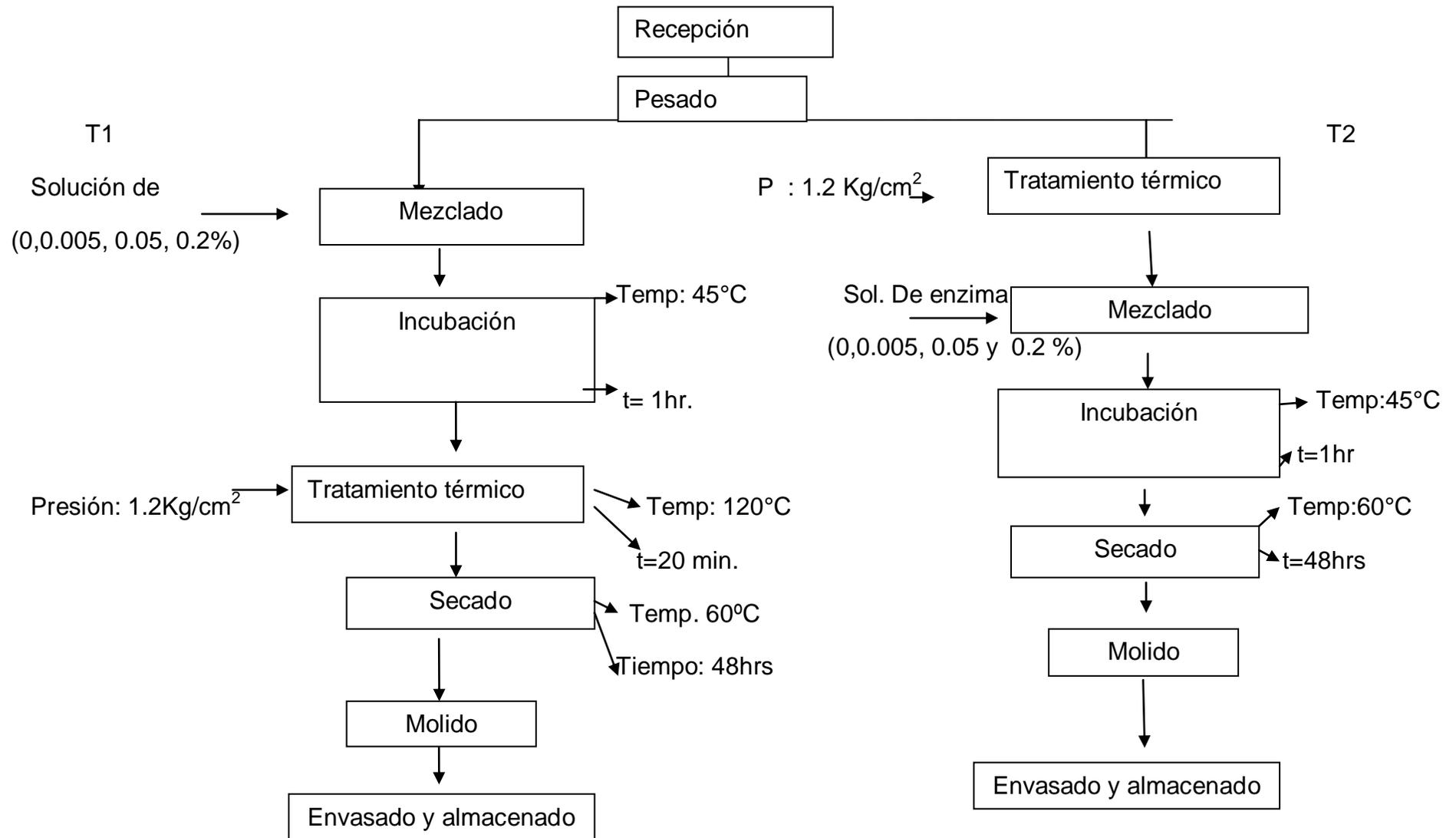
Se peso 1 kg de pluma por triplicado por solución, las plumas se vaciaron en jarras de plástico, estas se sumergieron en las soluciones experimentales de 5 a 10 minutos, posteriormente, fueron incubadas con la soluciones en las bolsas para autoclave. Es importante mencionar que las plumas no se lavaron y se procesaron tal como llegaron del rastro.

Cuadro 3.1. Niveles de enzima por tratamiento (Objetivo particular 1, actividad 2).

Tratamiento	Nivel de enzima %
T1	0 [£]
T2	0
T3	0.005
T4	0.05
T5	0.2

[£]: En el caso de este testigo las plumas solo se secaron.

Figura 3.1 Proceso de obtención de harina de pluma con incubación antes y después del autoclave



3.1.4 TRATAMIENTOS

Tratamiento 1 (Act. 3 Obj1). Autoclave con temperatura de 120°C, presión 1.2Kg/cm², tiempo 20 min e incubación posterior a 45°C durante 1hr.

Tratamiento térmico:

Colocar 250 g de plumas de pollo procedentes del rastro, en bolsas especiales para autoclave sin enzima, en total se trabajó con 16 bolsas. Posteriormente, las bolsas se introdujeron en una autoclave ALL AMERICAN[®] y se sometieron a una temperatura de 120°C (1.2 kg/cm² de presión) durante 20 minutos.

Incubación

A las bolsas una vez salidas del autoclave, se distribuyeron al azar en cuatro tratamientos de concentración de enzima con cuatro repeticiones, para cada tratamiento se les agregó la solución correspondiente de la enzima proteasa fungal, con el nivel correspondiente de enzima, las bolsas se introdujeron en un baño María GRANT[®], a 45°C, donde permanecieron 1 h incubándose. Durante el proceso se realizó agitación constante, para una buena distribución de calor.

Secado:

Después de la incubación, todas las bolsas se abrieron, se vaciaron y se homogeneizaron y se colocaron en charolas de aluminio para posteriormente secarse en una estufa ROBERT SHAW Co[®]. durante 48 horas a una temperatura de 60°C.

Molienda:

Las plumas de cada nivel, una vez secas, se molieron en un molino WILLEY[®] a un tamaño de partícula de 1mm.

Envasado y almacenamiento:

La harina obtenida por tratamiento, se almacenó en bolsas de plástico en un lugar fresco y seco para evitar deterioro.

La muestra testigo, no recibió tratamiento térmico, ni enzima

Tratamiento 2 (Act. 3, Obj 1)

Incubación a 45°C durante 1 hora, posteriormente se sometió a un tratamiento térmico con autoclave a temperatura de 120 °C, con presión 1.2 Kg/cm², por 20 min.

1) Incubacion

Se colocaron 250 g de plumas de pollo por bolsa, en total 16 bolsas, las cuales se distribuyeron al azar en cuatro tratamientos de concentración de enzima con cuatro repeticiones, para cada tratamiento se les agregó la solución correspondiente de la enzima proteasa fungal, con el nivel correspondiente de enzima, las bolsas se introdujeron en un baño María *GRANT*[®], a 45°C, donde permanecieron 1 h incubandose. Durante el proceso se realizó agitación constante, para una buena distribución de calor.

Tratamiento térmico

A continuación las plumas fueron llevadas a un tratamiento termico con una autoclave *ALL AMERICAN*[®] la cuales se sometieron a una temperatura de 120°C (1.2kg/cm² de presión) durante 20 minutos.

Secado:

Después de la incubación, las bolsas de cada nivel se abrieron y se vaciaron en charolas de aluminio, se homogeneizaron para posteriormente secarse en una estufa *ROBERT SHAW Co*[®]. durante 48 horas a una temperatura de 60°C.

Molienda:

Al secarse las plumas, estas se molieron , en un molino *WILLEY*[®] a un tamaño de partícula de 1mm.

Envasado y almacenamiento:

La harina obtenida por tratamiento, se almacenó en bolsas de plástico en un lugar fresco y seco para evitar deterioro.

3.2 DETERMINACIONES

3.2.1 Actividad 1, Objetivo 2

A cada tratamiento se le realizó por triplicado, las determinaciones que se muestran en el cuadro 3.3, los datos se transformaron a base seca.

Cuadro 3.3 Determinaciones que se efectuaron a los productos de los diferentes tratamientos.

Fracción	Técnica	Fuente
GRASA	9.110 Extracto etéreo	A.O.A.C (2012)
PROTEÍNAS	8.100 Macro Kjeldhal	A.O.A.C (2012) Morfin (2013)
CENIZA	7.100 Determinación de cenizas	A.O.A.C (2012)
DIGESTIBILIDAD	7.037 Digestibilidad con pepsina	A.O.A.C (2012)

3.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos obtenidos de cada determinación fueron sometidos a un análisis de varianza, para los datos de digestibilidad se realizó un arreglo factorial 2x5 (Daniel, 2004), donde el primer factor fue el el tratamiento térmico y el segundo factor los niveles de la enzima Las diferencias entres medias fueron analizadas con la pruebas de Tuckey.

$$Y_{ijk} = \mu + M_i + t_j + I_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

Donde

A: grasa, proteínas, cenizas, digestibilidad

μ_i =Efecto del i-esimo método usado

T_j= efecto del j-esimo concentración

ϵ_{ijk} Error aleatorio

$$HSD = q(\alpha, k, n - k) \sqrt{CM_{res} \div n}$$

CAPITULO 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Composición química

En el Cuadro 4.1 se muestran los resultados obtenidos de análisis químico de las harinas de plumas tratadas en autoclave a 120°C durante 20 minutos seguido de incubación 45°C, se observa que no se encontraron diferencias significativas en la composición química entre las diferentes concentraciones de enzimas.

Cuadro 4.1. Composición de las harinas de plumas tratadas con autoclave a 1.2 Kg/cm² a 120°C durante 20 minutos, seguido de incubación. Datos en base seca.

Enzima	Fracciones		
	P.C	E. E	C
%	%	%	%
Sin proceso	86 ± 0,3 ^a	4,76±0,07 ^a	6,3±0,28 ^a
0	85,7±0,43 ^a	4,51±0,28 ^a	6,4±0,43 ^a
0,005	85,2±0,38 ^a	4,34±0,82 ^a	6,18±0,15 ^a
0,05	85,4±0,46 ^a	4,67±0,20 ^a	6,25±0,08 ^a
0,2	85,6±0,46 ^a	4,21±0,34 ^a	6,36±0,32 ^a

Letras diferentes por columnas denotan diferencias significativas p<0.05

Promedio de cuatro repeticiones

Proteína cruda =Nx6.25

g/100 g de muestra

P.C: Proteína cruda

E.E: Extracto etéreo

C: Ceniza

En el Cuadro 4.2 se muestran los resultados obtenidos de análisis químico de las harinas de plumas tratadas con incubación a 45°C durante una hora seguido de la autoclave a 120°C durante 20 minutos, se observa, que no se encontraron diferencias significativas en cuanto a la composición química, por efecto de las niveles de enzima.

Cuadro 4.2 Composición química de las harinas de plumas tratadas con incubación a 45°C, seguido de autoclave a 1.2Kg/cm² a 120°C durante 20 minutos en base seca.

Enzima (%)	P.C %	Fracciones	
		E. E %	C %
Sin proceso	86 ±0,31 ^a	4,78±0,05 ^a	6,33±0,06 ^a
0	85,2±0,39 ^a	4,45±0,36 ^a	6,43±0,42 ^a
0,005	85,5±0,51 ^a	4,59±0,28 ^a	6,18±0,15 ^a
0,05	85,4±0,49 ^a	4,67±0,20 ^a	6,51±0,26 ^a
0.2	85,8±0,32 ^a	4,57±0,06 ^a	6,37±0,34 ^a

Letras diferentes por columnas denotan diferencias significativas p<0.05

Promedio de cuatro repeticiones

Proteína cruda =Nx6.25

g/100 g de muestra

P.C: Proteína cruda

E.E: Extracto etéreo

C: Ceniza

4.2 Digestibilidad

El cuadro 4.3 muestra los datos de la digestibilidad de las harinas de pluma, se observa que hubo diferencias significativas si el tratamiento térmico se aplicó previo o posterior a la incubación con la proteasa fungal. Resalta que con 0.005% de enzima hubo mayor digestibilidad, Sin embargo, el aumento de digestibilidad fue mayor en el tratamiento térmico previo a la incubación.

Cuadro 4.3 Digestibilidades en pepsina 0.02%, en los tratamientos térmicos previo y posterior a la incubación con diferentes niveles de proteasa fungal. En base seca.

Enzima	Tratamiento térmico	
	Previo	Posterior
%	%	%
sin proceso	13,2±0,15 ^d	13,3±0,10 ^d
0	24.6±3,16 ^b	15,5±0,36 ^c
0.005	27,8±3,50 ^a	23,2±3,10 ^a
0.05	22,3±2,67 ^c	18,7±0,67 ^b
0.2	24,6±2,97 ^b	17±0,98 ^{bc}

4.3 Interacción entre tratamientos

En el cuadro 4.4 se muestran los resultados de interacción entre los niveles junto con las fracciones, donde se obtuvo que no hay interacción entre estas a pesar de que se manejaron diferentes concentraciones y cambio en el orden de incubación, pero cuando vemos la digestibilidad si hay interacción entre el tratamiento y concentración de enzima, debido a que con la incubación posterior las plumas al ser tratadas con autoclave, se podrían haber desdoblado los puentes disulfuro, permitiendo que la enzima actuara más fácilmente.

Cuadro 4.4 Análisis de la interacción de las concentraciones de enzima Proteasa fungal con los tratamientos térmicos.

fuelle de variación	GL	P.c	E.e	Cz	Digestibilidad
conc. De enzima	4	ns	ns	ns	**
T.t	2				
conc. De enzima x T.t	8	ns	ns	ns	**

ns: no significativo, G.L: grados de libertad , **significancia estadística 0.05%

P.C: Proteína cruda

E.E: Extracto Etéreo

C: ceniza

4.4 Análisis de costos

En el cuadro 4.5 se muestran la relación de los servicio y la materia prima para saber el costo aproximado del proceso, las pluma de pollo no tuvieron un costo debido a que es considerado material de desecho, el proceso es rentable si se trabajan 3 toneladas diarias en un turno de 8 horas. El costo de la pluma sin enzima es de 7,000 pesos para una tonelada y con enzima su costo es de 9,070 pesos.

Cuadro 4.5 Análisis de costo para la obtención de harina de pluma

CONCEPTO	COSTO POR TONELADA,
AGUA	\$ 2,000
PERSONAL	\$10,000
LUZ	\$ 5,000
GAS	\$ 10,000
TRANSPORTE	\$ 150
PLUMAS DE POLLO	\$ 1,000
ENZIMA 0.005%	\$ 10.35
TOTAL	\$29,510

DISCUSIÓN

Existen evidencias de que la composición química de la harina de pluma no cambió tanto con el tratamiento térmico, como con los diferentes niveles de enzima, lo cual coincide con Hanley (2007). Pese a que los resultados obtenidos no son similares a los resultados de dicho autor, la tendencia es similar.

Los valores de PC coincidieron con los que se muestran en las tablas de FEDNA (2012) y Kim *et al.* (2002); en cuanto a extracto etéreo y cenizas, los resultados obtenidos son menores a los que mencionan los autores anteriores, lo cual se puede atribuir al tipo de estirpe de pollo que se utilizó en los experimentos.

La digestibilidad obtenida en la pluma sin ningún tratamiento fue baja (13 %), lo cual se podría explicar porque no tenía ningún proceso de hidrólisis, y es a partir de esta información donde se podría saber si los tratamientos cambiaron este parámetro. La incubación con enzima posterior al tratamiento térmico incrementó la digestibilidad casi el doble, en contraste con la incubación previa al tratamiento térmico. El incremento de la digestibilidad por el tratamiento térmico antes de la incubación, sin la adición de enzima, se podría explicar porque se desdoblaron los enlaces, lo cual pudo haber roto los puentes disulfuro (González y Bauza, 2010)

El valor numérico de las digestibilidades, en ambos casos, fue menor que los resultados obtenidos por Lasthaw *et al.* (1994) y del Águila (2011), los valores de digestibilidad mayores obtenidos por los autores citados se pueden atribuir a que las temperaturas utilizadas (150-160 °C) fueron mayores que las utilizadas en este trabajo; además, el tiempo al cual se sometió la harina de pluma a esas temperaturas, mas de 60 minutos; sin embargo, Papadopulus (1984) encontró que a esas temperaturas, se podrían destruir aminoácidos, como la lisina, cisteína y metionina, ocasionando la formación de lantionina, el cual es un aminoácido no formador de proteínas y tóxico .

En cuanto al efecto de las concentraciones de enzima, existen evidencias de que el tratamiento con enzima a la concentración de 0.005 %, incrementaba la

digestibilidad debido a que la enzima tiene mas facilidad de unirse al sustrato, ya sea con incubación previa o posterior al tratamiento térmico, sin embargo, ese incremento es menor al obtenido por Papadopulus (1986), esto podría deberse al tipo de enzima que se utilizó o bien a esa concentración la enzima se inhibe por la estructura de la proteína que no le permite realizar el complejo enzima- sustrato como en otras proteínas

En cuanto a la relación costo beneficio tenemos que el harina de pluma “SIN ENZIMA” cuesta de \$7200 pesos por tonelada, agregando la enzima el costo aumentaría, sin embargo, se eleva el beneficio debido a que se utilizarían pequeñas cantidades de enzima por tonelada, así como también se obtendría una harina donde no se alteran sus componentes, además del beneficio ecológico debido a que se utilizaría este subproducto evitando malos olores, moscas, contaminación ambiental.

CONCLUSIONES

La composición química en cuanto a extracto etéreo, cenizas y proteína no cambio por efecto del tratamiento térmico ni por los diferentes niveles de enzima.

El tratamiento térmico previo a la incubación eleva la digestibilidad, sin embargo, los valores obtenidos fueron menores al 30 %.

La digestibilidad se incrementó a la concentración de 0.005% ya sea si se da un tratamiento térmico a la harina de pluma previo o posterior a la incubación con enzima.

ANEXO

DIGESTIBILIDAD DE PEPSINA DE ALIMENTACIÓN DE PROTEÍNA ANIMAL (AOAC, 2012)

PRINCIPIO

La muestra desengrasada es digerida 16 hrs en una solución caliente de pepsina bajo constante agitación. El residuo insoluble es aislado por la filtración, lavado, secado y pesado para determinar el porcentaje de residuo. El residuo es examinado microscópicamente y analizado para proteínas. La filtración es un método aplicable para las proteínas de origen animal.

El método no es aplicable para proteínas vegetales o mezcla de alimentación debido a la presencia de carbohidratos complejos y otros componentes que no son digeridos por la pepsina.

Equipos

(a) Agitador.- Continuo, velocidad lenta (15 rpm), para operar adentro del incubador a 45°C y llenar 8 onzas (150 ml.) en las botellas, o su equivalente, el agitador y las botellas están disponibles en D.E Sims, 716 Forrest Ave, Quincy, IL 62301. el tipo de agitador con agitación no puede ser usado con partículas sólidas debido a que se adhieren a las paredes de las botellas y no están en contacto con la solución de pepsina. Si el calor del motor del agitador sobrepasa los 45°C, el montaje del motor debe pasar por el agujero de perforación a través del incubador y conectar el motor al agitador con extensión con un eje de extensión y acoplamiento.

(b) Estante de sedimentación.- Metal o madera para mantener las botellas de digestión en un ángulo de 45°C. Puede estar hecho de 2 tablas clavadas horizontalmente en forma de "V", que están disponible con el proveedor del agitador.

(c) dispositivo de filtrado.- Buchner California modificado, disponible en Labco Co Corp., 8811 Prospect Ave, Kansas City, MO 64132, No. 55100. (Si el borde de la pantalla es aspero, se puede alisar con una pequeña punta de acero).

Use con el manguito de retención, 2 x 2.75", con un tubo de acero, disponible con el proveedor del agitador (a).

(d) Vaso de filtro para fibra.- 7cm, Reeve Angel, No. 934-AH, o su equivalente.

(e) Platos de humedad.-Al, 78mm x 20mm, con cubierta exterior y lado verticales (Curtin Matheson Scientific, Inc., No 19370-30, o equivalente.

Reactivos

Solución de Pepsina.- 0.2% Pepsina (actividad 1:10,000) en 0.075N HCl; no use Pepsina con otra actividad, prepárela solo justo antes de usar y diluya 6.1 ml de HCl para 1L y caliente para (42-45°C), agregue la pepsina y agite gentilmente hasta disolver. No caliente la solución en el fuego.

Tamize la muestra, a través de la malla 20, muele el producto retenido en la malla, y combine ambas porciones, mezcle y agite en 500ml. El mezclador Thoro es esencial, debido al gran contenido de grasa de muchos productos animales, molidos sin tamizado pueden pegarse

Extracción

Prepare la extracción con papel filtro de celulosa Whatman del núm.2 de la siguiente manera: doble el papel a la mitad, desdoble y vuelva a doblar en los ángulos del primer doblado, de vuelta al papel y repita los dobleces con ángulos de 45°C hacia el doblado original.

Se van a utilizar cartuchos de celulosa (6-8 mm) esto va a depender del porta muestras del extractor en donde serán colocados estos tubos, doble los papeles filtro a lo largo de las líneas para formar 4 puntos de estrella.

Pese 0.500 g de muestra para hidrolizado de pluma de pollo (debido a las gomas naturales y cantidad del residuo) colóquelo en el papel filtro e introdúzcalo en el cartucho de celulosa, se realizará la extracción durante 1 hr con éter hasta que empiecen a gotear 3-4 gotas por segundo. Si el papel donde se contiene la muestra está totalmente sumergido en el vaso de sifón, esta debe estar completamente envuelta en el papel. Observe la extracción de éter para determinar que las partículas que no son sólidas son llevadas dentro

del solvente. Si aproximadamente el contenido de grasa es deseado, la evaporación del éter, secado y pesado del residuo.

Remueva el papel del contenedor de muestra y déjelos enfriar en un cuarto a temperatura ambiente, despliegue y cepille la muestra desengrasada dentro de la botella de digestión, evitando la contaminación debido a la cerdas del cepillo o las fibras del papel filtro, use el embudo, es útil para evitar pérdidas.

Digestión de pepsina

Agregue 150 ml de solución con pepsina preparada al instante, precalentada de 42-45°C; debe asegurarse de que la muestra este completamente sumergida en la solución de pepsina, selle y ajuste la botella y el agitador, e incube con agitación constante durante 16 hr a 45°C.

Tratamiento del residuo

Seque papeles filtro de celulosa durante 30 minutos a 110°C, posteriormente enfríelos en un desecador cerrado durante 30 minutos y péselos (w1).

Remueva las botellas del agitador en el ángulo de 45°C, contenidas en el rack, deje asentarse al residuo durante 15 minutos; coloque los papeles filtros en el Buchner California, aplique la succión y humedezca el embudo con agua destilada.

Presione gentilmente el filtro hacia abajo, enjuague las partículas del residuo en la tapa en el filtro con pequeñas cantidades de agua destilada. Lleve la botella del el rack para el filtro en el mismo ángulo establecido y lentamente atravéz del filtro, evite agitación innecesaria.

Con el residuo esparcido sobre la superficie del filtro pero no lo cubre completamente hasta que todo el liquido allá pasado atravéz del papel filtro, si la filtración se vuelve muy lenta, esto puede se acelerado agregando lavados de acetona.

Después de esto las muestras se secaran en la estufa durante 1 hora a 100°C, se dejaran enfriar en un desecador durante 30 minutos y se pesaran (W2)

Para obtener el residuo indigestible se utilizara la siguiente ecuación:

% residuo indigestible = $(W2-W1) \times 100 / g$ de muestra

REFERENCIAS

AOAC (Association of official Analytical Chemists). (2012). *Official Methods of Analysis*, 19th.volume 2Washington D.C

Arroyo M.,Acebal,C. y De la Mata, I.(2014). *Biotecnología blanca: la producción de enzimas en el uso alimentario*.doi:<http://dx.doi.org./10.3989/arbor.2014.768n4010>.

Benítez R. Ibarz.A.,Pagan.J. (2008). *Hidrolizados de proteína: procesos y aplicaciones*. Acta bioquímica, Clínica latinoamericana v42. N2.Pp 227-236. actabio@fbbpa.org.ar.

Boletín técnico Enzimas Mexicanas (ENMEX S.A de C.V) TFSD 001.12.133 MARZO 29 2012 SUSTITUYE A MARZO 30 2007.

Camean A.M., Reppeto.J.M. ,Jos.G.A. (2012). *Tóxicos formados durante el procesado, preparación y almacenamiento de los alimentos*. México, D.F Ediciones Díaz de Santos, p.507

Calderón,M. (2000). *Efecto de tres tiempos de hidrolizado sobre el contenido de proteína y digestibilidad de harina de pluma y sangre*.Honduras. Escuela Panamericana, Zamorano-Honduras.

Carrera,J.E. (2003). *Producción y aplicación de enzimas industriales*. Revista *Biotecnología en el sector agropecuario y agroindustrial*. Facultad de Ciencias Agropecuarias.Vol.1 <http://www.unicauca.edu.co./biotecnología/ediciones/vol1/Ar11.pdf>)

Combariza,R.E. (2012). *Estudio y digestibilidad en harina de pluma y sangre para DISTRAVES, S.A.*, Tesis de licenciatura para Ingeniero Químico Universidad Industrial de Santander,Bucaramanga <http://repositorio.uis.edu.co/jspui/bitstream/123456789/6734/2/139062.pdf>) pág. 21

Daniel W.W.(2004) *Bioestadística. Base para el análisis de la ciencia de la salud*, 4ª.Méxicoed. LimusaWiley. 755 p.

Del Águila, F. (2011). *Harina de plumas .Hidrolisis enzimática vs. Método convencional*. Bolivia, pp. 49-51 (<http://www.engormix.com/MA-balanceados/fabricación/articulos/harina-de-plumas-t3392/801-p0.htm>)

FEDNA (2012). (www.fundacionfedna.org/.../harina-de-plumas-hidrolizada-5)
de octubre 2015 14:43pm

Fenema O.R. (1995). *Química de los Alimentos*. Zaragoza, España. 2da. Edición. Editorial Acribia P 515.

García G. M., Quintero R.R., López.M.C.A. (2010). *Bioteología alimentaria*. México D. F. Limusa Noriega Editores. pp 401-404.

González, A. y Bauza, R. (2010). *Valor nutritivo de las plumas tratadas por dos métodos de hidrólisis para la alimentación de cerdos*, Agrociencia Uruguay, Volumen 14 2:55-65 diciembre 2010.

Harrap.B.S and Wood. (1964). *Soluble derivatives of feather Keratin, Molecular weight and conformation*. Biochemistry 92(1):19.

Hanley F. (2007). *The Use of Enzyme Processing to Improve the Nutritive Value of Keratin – Containig Raw Materials: Case of Studies From Around de World, St Catherine, Jamaica*.

Latshaw J.D, Mushraf, N. Retrum.R. (1993). *Processing of feather meal to maximize its nutritional value for poultry, Animal Feed Science and Technology* vol.47, USA, Ohio state University, pp 179-188.

Mafart P. (1994). *Procesos físicos de conservación. Ingeniería Industrial Alimentaria*. Vol.1 editorial, Acribia, Zaragoza, España pp. 100-105.

Macedo M., Segura R., Piñero B. J, Coello N. (2000). *Aislamiento y caracterización de una cepa de Bacillus spp degradadora de plumas de aves de corral*. Revista Científica FCV LUZ, vol. 10 Núm.2 pp.124-129, Venezuela, (<http://revistas.luz.edu.ve/index.php/rc/article/viewFile/4805/4675>)

Morfín, L.L. (2013). *Manual del laboratorio de Bromatología*. FES-Cuautitlán, UNAM. P. 91

Moore,R.P.G.,Martelli,M.S,Gandolfo,A.C.Pires,T.NA,Laurindo,B.J(2006),*Chicken Feather Keratin: extraction ,characterization and films preparation* .Food Science and Technology,vol26,num2,Campinas.<http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612006000200027>.

Norma Oficial Mexicana para la Harina de Pluma (2004) NMX-Y-016-SCFI-2004.

Parzaneza M. (2011). *Alimentos Argentinos: una elección natural. Tecnologías para la Industria Alimentaria*. Ficha No.18. pp. 8-13, fuente: (www.alimentosargentinos.gob.ar/).15diciembre2014

Papadopulus,M.C.(1984). *Processed chicken feathers feedstuff for poultry and Swine*.Department of animal science, Agricultural University, The Netherlands, p. 275-290

Papadopulus,M.C(1986). *The effect of enzymatic treatment amino acid content and nitrogen characteristics of feather meal*.Department of animal science, The Netherlands,Agricultural University, pp 151-156.

Quintero.R.Lopez,M.A. (1987). *Tecnología enzimática aplicaciones en alimentos y medicina*.Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, México, D.F. pp. 86-87

Quintero R. García.G.M.(1999). *Biotecnología Alimentaria*,México, D.F Editorial Limusa, pp. 104, 401-404

Salazar, E. 2012. *Remoción de hidrocarburos mediante los biopolimeros naturales: efecto de tamaño de partícula*. Tesis de maestría Universidad Nacional Autónoma de San Luis Potosí p.5-7.

Sáenz V.A. (2006). *Proteasas alcalinas de una cepa nativa de Bacillus spAlcalofílico*. Revista: Ingeniería y Ciencia ISSN 1796-9165 Vol.2 Núm. pp. 29-38

Sandoval.J.J.(1995). *Anatomía de las aves*.Zaragoza, España,EditorialAcribia, pp. 19

SIAP. (2011). Recuperado el 10 de abril de 2011, de http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com_wrapper&view=wrapper&Itemid=369.

Scott, M.L., Neishem, M.C., Young.R.J. (1982). *Nutrition of Chicken*.Cornell University, Ithaca, New York, ediciones GEA, Barcelona 3a edición. P 58

Steiner,R.J.,Kellems,R.O and Church,D.C.(1983).*Feather and Hair for ruminants.IV.Effects of Chemical treatments of feather and processing time on digestibility*.Journal of Animal Science.Vol.57 (2):495.

TECNA.(1980).*Hidrolizados de harina de pluma*. Selecciones Avícolas, Realescuela de Avicultura, Barcelona pp. 91-92.Fuente: http://ddd.uab.cat/pub/selavi/selavi_a1980m3v22n3@reavicultura/selavi_a1980m3v22n3p91@reavicultura.pdf

UDEA. (2000). Química de Alimentos,Facultad de Química, Universidad de Antioquia, Colombia <http://docencia.udea.edu.co/QcaAlimentos/contenido/utilidad5.htm>

Vallejo H,L.(2014)*Modificación de variables de degradación y fermentación in vitro e in situ de una dieta con fitasa exógena para borregos en crecimiento*. Tesis de maestría Colegio de postgraduados, campus Montecillo Texcoco, Estado de México

Vázquez M.C. y García L. P. (2005). *Proteínas en nutrición artificial, Unidad de Nutrición*. Hospital Universitario Virgen del Rocío,Barcelona, España Ediciones: EDIKAMED S.L. Pp1-3

Kim W. K. y Patterson P. H. (2000). *Nutritional Value of Enzyme- or Sodium Hydroxide-Treated Feather from Dead Hens*. The Pennsylvania State University Poultry.Science.Vol.79 (4):528.