

13

2ej-



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

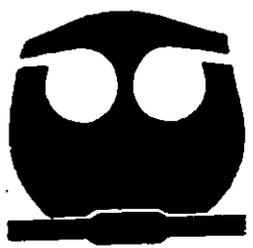


EXAMENES PROFESIONALES FAC. DE QUIMICA

COMPOSICION QUIMICA Y OBTENCION DE CONCENTRADOS DE PROTEINA FOLIAR DE PLANTAS ACUATICAS PRESENTES EN LOS CANALES DE XOCHIMILCO

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE: QUIMICA DE ALIMENTOS PRESENTA: ADELINA ESCAMILLA LOEZA



MEXICO D. F.

1998

TESIS CON FOLIO DE CUBRIMIENTO

250405



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **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 está 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.

Presidente	Prof. <b>VIADES TREJO JOSEFINA</b>
Vocal	Prof. <b>LEAL LARA HERMILO</b>
Secretario	Prof. <b>CARRANCO JAUREGUI MARÍA ELENA</b>
1er. Suplente	Prof. <b>SOUSA ROJANO HUGO †</b>
2do. Suplente	Prof. <b>SANDOVAL GUILLEN BERTHA JULIETA</b>

Sitio donde se desarrolló el tema:

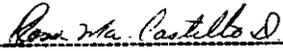
Instituto Nacional de la Nutrición "Salvador Zubirán"  
Subdirección General de Nutrición Experimental y de Comunidad.  
Departamento de Nutrición Animal.

Parque Ecológico de Xochimilco.

Asesor del Tema:

  
-----  
Q. F. B. MARÍA ELENA CARRANCO JAUREGUI

Supervisor Técnico:

  
-----  
BIOL. ROSA MARÍA CASTILLO DOMÍNGUEZ

Sustentante:

  
-----  
ADELINA ESCAMILLA LOEZA

A MIS QUERIDOS PADRES  
ARTURO Y AVELINA POR SU  
EMPEÑO Y DEDICACIÓN  
HACIA TODAS SUS HIJAS CON  
EL AFÁN DE SU SUPERACIÓN

A MIS HERMANAS POR SU  
EJEMPLO DE HONESTIDAD Y  
LUCHA CONTINUA HACIA  
LO ADVERSO

A MIS SOBRINOS PORQUE  
LA PRESENTE LES SIRVA DE  
EJEMPLO EN EL FUTURO Y  
LOGREN LLEGAR MÁS ALLA  
DE SUS METAS FIJADAS

A TODOS ELLOS POR SER UNA  
GRAN FAMILIA, POR SU APOYO Y  
CONSEJOS, CON TODO MI  
CARIÑO, GRACIAS

A MIS ADORABLES CHATOS, MIS  
AMIGOS DE TODA LA VIDA: ULI,  
PATY, IVONNE, FABIOLA, LUIS Y  
SANDY CON QUIENES COMPARTÍ  
MOMENTOS BUENOS Y MALOS,  
GRACIAS POR COMPARTIRLOS

A MARÍA ELENA Y ROSA MARÍA  
POR SUS CONSEJOS Y DIRECCIÓN

A MARISOL MARTÍNEZ, JORGE,  
IVÁN Y EDUARDO POR SER  
HONESTOS Y SU AYUDA  
INCONDICIONAL

A FERNANDO I., HÉCTOR L., IRENE  
T., ALFONSO M., PATY T. Y MARU  
POR SU GRAN AYUDA  
DESINTERESADA

AGRADEZCO:

AL DEPARTAMENTO DE NUTRICIÓN ANIMAL DEL I.N.N.S.Z.

AL PARQUE ECOLÓGICO DE XOCHIMILCO

AL INSTITUTO DE BIOLOGÍA DE LA U.N.A.M.

ESPECIALMENTE:

AL DR. FERNANDO PÉREZ-GIL ROMO

AL DR. ERWIN STEPHAN-OTTO PARODI

AL BIOL. LEANDRO RAMOS VENTURA

POR SU AYUDA TÉCNICA Y FINANCIERA

## ÍNDICE

CAPÍTULO	PÁGINA
RESUMEN	
1.-INTRODUCCIÓN.....	5
2.- ANTECEDENTES.....	8
2.1.- CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LAS PLANTAS ACUÁTICAS.....	8
2.2.- DESCRIPCIÓN DE LAS PLANTAS ACUÁTICAS.....	10
2.2.1.- GENERALIDADES.....	10
2.2.2.- TIPOS DE PLANTAS ACUÁTICAS.....	12
2.2.3.- FORMAS DE VIDA DE LAS PLANTAS ACUÁTICAS.....	13
2.3.- USO DE LAS PLANTAS ACUÁTICAS.....	14
2.4.- COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LAS PLANTAS ACUÁTICAS.....	15
2.5.- PROPIEDADES DE LAS PROTEÍNAS.....	18
2.5.1.- AMINOÁCIDOS.....	19
2.5.1.1.- ESTRUCTURA DE LOS AMINOÁCIDOS.....	20
2.5.2.- CLASIFICACIÓN DE LAS PROTEÍNAS.....	24
2.5.3.- ESTRUCTURA DE LAS PROTEÍNAS.....	26
2.5.4.- SOLUBILIDAD DE LAS PROTEÍNAS.....	27
2.5.5.- REACCIONES COLORIDAS.....	30
2.5.6.- CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS DE LAS PROTEÍNAS.....	34
2.5.7.- PURIFICACIÓN DE LAS PROTEÍNAS.....	36
2.5.8.- DESNATURALIZACIÓN DE LAS PROTEÍNAS.....	39

---

2.6.- PROTEÍNAS DE HOJAS.....	42
2.7.- CONCENTRADOS DE PROTEÍNA FOLIAR. USO E IMPORTANCIA.....	43
2.8.- MÉTODOS DE OBTENCIÓN DE CONCENTRADOS DE PROTEÍNA FOLIAR.....	45
3.- JUSTIFICACIÓN.....	49
4.- OBJETIVO GENERAL.....	50
4.1.- OBJETIVOS PARTICULARES.....	50
5.- MATERIAL Y MÉTODO.....	51
5.1.- OBTENCIÓN DE LAS PLANTAS ACUÁTICAS.....	51
5.2.- CARACTERÍSTICAS DE LAS PLANTAS ACUÁTICAS COLECTADAS.....	57
5.3.- OBTENCIÓN DEL CONCENTRADO DE PROTEÍNA FOLIAR.....	60
6.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	63
6.1.- CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA.....	63
6.2.- ANÁLISIS QUÍMICO APROXIMADO Y ENERGÍA BRUTA.....	65
6.3.- FRACCIONES DE FIBRA.....	68
6.4.- FACTORES ANTIFISIOLÓGICOS.....	70
6.5.- MINERALES.....	72
6.6.- OBTENCIÓN DE LOS CONCENTRADOS DE PROTEÍNA FOLIAR.....	74
6.7.- PROTEÍNA CRUDA, PROTEÍNA VERDADERA Y AMINOGRAMA.....	79
7.- CONCLUSIONES.....	84
8.- SUGERENCIAS.....	85
9.- BIBLIOGRAFÍA.....	87
10.- APÉNDICE 1. DETERMINACIÓN DE FRACCIONES DE FIBRA.....	95

## RESUMEN

La influencia de los asentamientos humanos sobre los canales ha ocasionado un desbalance hidrológico sobre éstos con la pérdida de profundidad y extensión de las zonas inundadas, lo que da como resultado la supresión de hábitats para varias comunidades acuáticas. De continuar esta tendencia es posible que en pocos años desaparezca este recurso natural de manera irreversible.

Sin embargo, aún es tiempo de tomar las medidas adecuadas para proteger, conservar y aprovechar los recursos que nos brindan las plantas pensando en buscar alternativas para su aprovechamiento pesquero, agrícola, recreativo y turístico.

La composición química de las plantas varía por factores como la parte saliente de la planta que se analiza (tallo, hoja, raíz, etc.), grado de madurez (la concentración de proteína decrece con la edad de la planta y el contenido de taninos y fibra aumentan), localización en el cuerpo de agua (rivera, centro, lagos, etc.), calidad del agua y algunos factores ambientales como luz y temperatura.

El objetivo de la presente investigación fue realizar un análisis químico de las harinas de siete plantas acuáticas colectadas en el área de Xochimilco: *Nymphaea mexicana*, *Lemna gibba*, *Hydrocotyle ranunculoides*, *Schoenoplectus sp.*, *Azolla mexicana*, *Polygonum mexicanum* y *Typha domingensis*. Estas plantas proliferan rápidamente, por tal motivo una forma de controlarlas es buscar alternativas de uso como posible fuente alimenticia.

Los resultados obtenidos en base seca fueron: proteína cruda 13.8-37.1%; extracto etéreo 2.7-5.4%; cenizas 8.8-17.3%; lignina 6.7-17.2%; celulosa 5.1-24.4%; hemicelulosa 1-28.8%; contenido calórico 2.9-3.8Kcal/g; minerales en mg/100g: sodio 155.6-1612.2; potasio 2.62.5-4380.4; magnesio 188.2-643.4; calcio 707.9-1944.3; hierro 6.18-34.5; zinc 2.0-17.7; fósforo 39.7-51.7; cobre, plomo, cadmio y cromo no se detectaron. El ácido tánico se presentó en un rango de 0.9 a 3.8% y alcaloides alrededor de un 70 %. Saponinas y glucósidos cianogénicos no se detectaron. La digestibilidad fue de alrededor de un 80%.

En los concentrados proteicos obtenidos, el contenido proteico se encontró en alta cantidad y los aminoácidos esenciales se encontraron por encima de lo recomendado por FAO/OMS (1985).

Los datos indican un buen comienzo en el estudio de las plantas y, en condiciones asépticas, su posible aprovechamiento alimenticio.

## 1.- INTRODUCCIÓN

Una de las comunidades bióticas de los medios acuáticos, es la conformada por las plantas, ya sea que se desarrollen en los bordes de los cuerpos de agua, como en el caso de las subacuáticas o las estrictamente acuáticas que puedan estar sumergidas, emergiendo o flotando en el cuerpo de agua.

Las macrófitas acuáticas son importantes componentes ecológicos de sistemas acuáticos. Son productoras primarias que proveen hábitat para invertebrados, epífitas, peces y una gran diversidad de otros organismos acuáticos. Su distribución y biomasa son influenciadas por una variedad de factores ambientales incluyendo transparencia del agua y profundidad, luz y disponibilidad de nutrientes, también factores bióticos como el grado de colonización por epífitas (Hopson, M. S. and Zimba, P. V., 1993; Wychera, U.; et al., 1993; Banerjee, A. and Matai, S., 1990; Petr, T., 1993).

Algunas plantas acuáticas se han usado por el hombre desde hace tiempo. Algunas son utilizadas como hortalizas, para crear cartón y manufactura de papel, tejados de paja, levadura, abono, hábitat de peces en peceras de acuarios y para elaborar lazos y canastos. Solo recientemente se ha desarrollado una investigación en la utilización de malezas acuáticas y sus usos en filtración de aguas residuales y abatimiento de contaminación, porque se sabe que acumulan grandes cantidades de ciertos elementos. También un gran número de estas plantas son usadas como alimentación animal (Gopal, B. and Sharma, K. P., 1979; Niño, S. y Lot, A., 1983; Boyd, C. E., 1969).

Las plantas acuáticas pueden crecer sucesivamente en áreas marginales y a su vez ser utilizadas para varios propósitos (Masoni, A.; et al., 1993). El empleo de macrófitas acuáticas como plantas alimenticias es importante desde el punto de vista de mejorar la falta de alimento en algunas localidades. La utilización de vegetación acuática como materia prima para la extracción de proteína foliar representa una nueva fuente de proteína para la dieta tanto humana como animal (Boyd, C. E., 1969; Bates, R. and Hentges, F., 1976).

Existe una constante y creciente demanda por la alta calidad de proteínas en los alimentos junto con el crecimiento de la población mundial. Los alimentos ricos en estas macromoléculas, como la carne, la leche y el huevo, son escasos en los países en vías de desarrollo, y además, por ser los más costosos de producir son los más difíciles de adquirir. Debido al alto índice de crecimiento demográfico, varios países realizan investigaciones sobre el uso de proteínas no convencionales para el consumo humano con el fin de poder satisfacer las necesidades de este nutrimento en las poblaciones de pocos recursos (Baduí, D. S., 1993).

Las hojas se caracterizan por ser la mayor fuente de proteínas del mundo y la producción de proteína por hectárea para algunos cultivos forrajeros es mucho mayor que la de semillas de los principales cereales y legumbres por lo que los cultivos forrajeros son la fuente de proteínas más económica. Esta gran cantidad de proteína se ha utilizado casi exclusivamente en alimentación de rumiantes, los cuáles representan pérdidas cercanas al 90%.

Este escaso aprovechamiento se debe, por un lado, a la baja concentración de proteínas en las hojas frescas y, por otro, al alto nivel de fibra asociada a las proteínas en los tejidos forrajeros, lo cual las hace inaccesibles a los animales monogástricos, incluido el hombre (Hernández, A. y Martínez, C., 1988a).

Los concentrados de proteína foliar como en el caso de la alfalfa, se han evaluado como alimento para niños e incluidos en formulaciones. No obstante promover o fomentar investigaciones es necesario para prever la producción y pureza de los concentrados (Hernández, T.; et al, 1991; Hernández, T. and Hernández, A., 1994).

El contenido de proteína varía considerablemente de especie a especie y es altamente dependiente de la estación, localidad y morfología de la planta. En común con las plantas terrestres, la proteína de plantas acuáticas está presente en relativamente baja concentración en la planta fresca, asociada con material intercelular y estructural. El concentrado de proteína durante su extracción, viene acompañado por un alto contenido en ácidos grasos insaturados, carotenos, xantófilas, almidón y minerales tales como hierro, calcio y fósforo (Virabalin, R.; et al., 1993; Bates, R. and Hentges, F., 1976; Boyd, C. E., 1968).

Este concentrado se puede utilizar, por tanto, como alimento para animales como: cerdos, becerros, pollos y peces, así como ser utilizado como complemento alimenticio junto con cereales ya que en la proteína foliar el aminoácido limitante es la metionina y la lisina en la proteína de los cereales, contribuyendo así a una mejor dieta que cualquiera de los dos solos (Bates, R. and Hentges, F., 1976; Boyd, C. E., 1969).

## 2.- ANTECEDENTES

### 2.1.- CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LAS PLANTAS ACUÁTICAS

Las comunidades vegetales ligadas al medio acuático o al suelo más o menos permanentemente saturado con agua, son muy variadas. Numerosas plantas acuáticas tienen áreas de distribución amplias. Las necesidades de la agricultura, de la industria, de las grandes urbes y de sus pobladores han provocado que se sequen ríos, arroyos, lagos y pantanos; que se construyan depósitos artificiales de agua, canales de riego, de desagüe y de navegación, que se modifiquen los cauces de las corrientes, los niveles de agua freática (capa de agua ubicada en el nivel superior de la corteza terrestre) y también los ritmos de las inundaciones.

Los desechos de las industrias y las aguas negras de las ciudades cambiaron de manera notable las condiciones físicas y químicas del agua que escurre por las corrientes, que se acumulan en las lagunas y aun en el mismo mar y la cercanía de las costas. Por esta razón han desaparecido muchos ambientes acuáticos y subacuáticos, se han alterado otros y también han aparecido nuevos que no existían con anterioridad. Paralelamente ha sido afectada la vegetación de estos sitios, extinguiéndose por completo en muchos y modificándose en otros (Rzedowski, J., 1978).

Las malezas acuáticas son el resultado y la manifestación del estado de envejecimiento o eutroficación de los embalses. Se define ésta como el exceso de nutrientes incorporados a los sistemas por las descargas de aguas y por los escurrimientos o aportes de las cuencas principalmente.

En la mayoría de las condiciones lacustres, los tres nutrientes causantes de la progresión de la eutroficación son: el fósforo, el nitrógeno y el carbono. El de mayor importancia en lagos cálidos es el fósforo, determinante del proceso evolutivo del envejecimiento de los embalses (Niño, S. y Lot, A., 1983).

Las macrófitas acuáticas son componentes de un recurso que hasta la fecha ha sido casi o totalmente subutilizado. El crecimiento prolífico de varias especies en ciertos cuerpos de aguas epicontinentales, fuera de representar ventajas para su utilización, actualmente constituyen serios problemas y cuando llegan a invadir totalmente los embalses o amenazan con hacerlo se les da el nombre de "malezas", lo que significa que forman parte de una plaga, ya que afectan la circulación de las embarcaciones y tienen efectos severos sobre la pesca y las actividades turísticas.

No existe una estricta definición del término macrófitas acuáticas, puesto que ciertas plantas se desarrollan en la zona de transición entre los ambientes terrestres y acuáticos o bien en zonas inundadas durante ciertas épocas del año, por lo que se consideran plantas acuáticas aquellas que crecen asociadas al agua o que al menos están presentes en suelos cubiertos con agua durante la mayor parte de la temporada

de crecimiento produciendo densos salientes en numerosos cuerpos de agua representando una abundante fuente natural (Arredondo, F., 1993; Boyd, C. E., 1973; Dewanji, A., 1993a).

Debido a los efectos adversos del crecimiento exagerado de estas plantas, se ha generado gran cantidad de información sobre su control con un especial énfasis en su erradicación. Esto conduce a una paradoja, ya que en muchos países en vías de desarrollo al utilizar estas plantas se transformaría el problema de las malezas en una excelente cosecha altamente productiva que no requiere de un conjunto de tareas agrícolas arduas, ni la compra de insumos como semillas y fertilizantes (Boyd, C. E., 1978; Dewanji, A.; et al., 1993b; Muztar, A. J.; et al., 1978).

## **2.2.- DESCRIPCIÓN DE LAS PLANTAS ACUÁTICAS**

### **2.2.1.- GENERALIDADES**

Es un hecho conocido que numerosas plantas acuáticas tienen áreas de distribución amplias, algunas casi cosmopolitas, pero no hay duda de que también existen muchas otras que sólo prosperan en regiones determinadas y de que igualmente hay estrechos endemismos, restringidos a veces a un sólo cuerpo de agua. Frecuentemente, las plantas y las comunidades acuáticas tienen una tolerancia bastante limitada con respecto a los factores ambientales y sólo se desarrollan si se presenta una serie de condiciones indispensables para su existencia.

Dentro de los factores que afectan el crecimiento de las plantas acuáticas se pueden citar la temperatura, luminosidad, pH, salinidad, concentración de oxígeno, nutrimentos y sus interacciones.

Estas plantas se adaptan a condiciones climáticas variadas, con temperaturas de 15° a 30°C. No se presentan en aguas que contengan altas concentraciones de sal. Se reproducen mayormente con buena iluminación e incrementan la pérdida de agua de donde habitan, la cual debe tener una profundidad variable de acuerdo a la planta de la que se trate. El agua en la que se desarrollan debe tener un pH con un rango entre 4.0 y 10.0, teniendo un óptimo crecimiento a pH cercano al neutro. A este pH se favorece la absorción de minerales como potasio y fósforo. Cuando hay deficiencia de Ca no crecen normalmente (Olvera, V. V. et al., 1989; Castañeda, G. E., 1990; Ensastegui, J. L. et al., 1995; Aguayo, S. M., 1995; Rzedowski, J., 1978).

Las plantas acuáticas tienen la capacidad de mantener una tasa de crecimiento exponencial en condiciones óptimas, esto es, temperatura y nutrientes adecuados. Se pueden duplicar de 2 a 5 días, según el área en donde se desarrollen. Llegan a ser hasta diez veces más productivas que algunas leguminosas. Las macrófitas acuáticas en general alcanzan valores de biomasa de 1,276 g/m<sup>2</sup> y 14.6 g/m<sup>2</sup>/día (Boyd, C. E., 1978, Olvera, V. V.; et al., 1989).

## 2.2.2.- TIPOS DE PLANTAS ACUÁTICAS.

Para determinar con facilidad y rapidez el tipo de plantas acuáticas y su forma de vida es necesario saber los siguientes conceptos:

- Tolerantes (T).- Son aquellas plantas que llevan a cabo gran parte de su ciclo de vida en suelos completamente secos, pero que pueden tolerar por corto tiempo el suelo inundado o alta humedad.
- Subacuáticas (S).- Son las plantas que llevan a cabo gran parte de su ciclo de vida en el agua y no pueden sobrevivir por largo periodo de tiempo en suelos completamente secos; generalmente se les encuentra en el margen de los ambientes acuáticos.
- Acuáticas Estrictas (A).- Las plantas que realizan prácticamente todo su ciclo de vida dentro del agua, ya sea sumergidas, emergidas o flotando.

### 2.2.3.- FORMAS DE VIDA DE LAS PLANTAS ACUÁTICAS.

*Plantas enraizadas al substrato; emergiendo, sumergidas o con las hojas sobre la superficie del agua:*

- ◇ Hidrófitas Enraizadas Emergentes (1).- Plantas emergentes; con sus estructuras vegetativas y órganos reproductores fuera del agua.
- ◇ Hidrófitas Enraizadas Sumergidas (2).- Plantas sumergidas; con sus estructuras vegetativas inmersas completamente en el agua; sus órganos reproductores pueden estar sumergidos o emerger y quedar por encima de la superficie del agua.
- ◇ Hidrófitas Enraizadas de Hojas Flotantes (3).- Plantas con las hojas sobre la superficie del agua y con los órganos reproductores emergiendo.

*Plantas flotando libremente en la superficie del agua:*

- ◇ Hidrófitas Libremente Flotadoras (4).- Sus estructuras vegetativas y órganos reproductores se mantienen por encima del agua; solamente su sistema radical se encuentra sumergido.
- ◇ Hidrófitas Libremente Sumergidas (5).- Sus estructuras vegetativas y sistema radical se mantienen sumergidas; solamente sus órganos reproductores se encuentran sobre la película de agua (Ramos, V. L. J. y Novelo, R. A., 1993).

### 2.3.- USO DE LAS PLANTAS ACUÁTICAS

El cultivo de macrófitas acuáticas es uno de los campos nuevos y prometedores en la acuicultura, ya que presentan ventajas comparativas para reducir los costos de alimentación de los organismos (Arredondo, F., 1993).

Los usos que se les dan a las plantas acuáticas de los canales corresponden a las categorías de forrajero, alimenticio, artesanal y en forma de abono.

Eichhornia, y Lemna son utilizadas como abono verde, principalmente en los sitios donde se efectúa la agricultura a orillas de los canales, en las parcelas, como en los embarcaderos, chinampas y en las ciénagas.

Como forrajeras se emplean Eichhornia, Polygonum, Typha, así como la Lemna y Azolla. Por lo común se hace uso de tales plantas en los sitios donde el nivel de agua es bajo y éstas se acumulan. Estas plantas sirven de alimento a diversos animales como puercos, conejos, caballos, vacas, pájaros, borregos, gallinas, etc. que se crían en el traspatio.

A nivel local se detecta a la Nymphaea de la cual se extrae y consume el tubérculo que la conforma. También es considerada como planta de ornato por el tamaño y belleza de su floración.

*Typha* y *Schoenoplectus* tienen uso artesanal en la elaboración de canastos, lazos, asientos de sillas, tapetes, cartón y papel, techos y diversas obras de orfebrería, así como de ornato (Ramos, V. L. J. y Novelo, R. A., 1993; Román, P., 1994; Gopal, B. and Sharma, K. P., 1979; Niño y Lot, 1983; Boyd, C. E., 1969, 1973).

En algunos países como Tailandia, India, Cuba y Canadá, principalmente, utilizan a las plantas acuáticas como *Eichhornia* y *Lemna* para usarlas en sistemas de acuicultura, tratamientos de desechos orgánicos y producción de alimentos para animales y humanos (Arredondo, F., 1993).

No todas las plantas acuáticas pueden ser consumidas directamente por la presencia de constituyentes secundarios en ellas, pero la extracción de la proteína comestible que las hojas proveen puede ser prometedora (Dewanji, A., 1993a; Longe, D. M., 1991).

## **2.4.- COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LAS PLANTAS ACUÁTICAS**

La composición química de las macrófitas acuáticas frescas puede variar dependiendo de la estación, localización, ambiente, cantidad de nutrientes presentes en el agua en la cual crecen y maduran (Boyd, C. E., 1978; Dewanji, A.; et al., 1993b; Muztar A. J.; et al., 1978) (Cuadro I).

Cuadro I. Composición química de algunas plantas acuáticas.

ESPECIE	HUMEDAD	PROTEÍNA	LÍPIDOS	FIBRA CRUDA	CENIZAS	ELN*	ENERGÍA
<b>FLOTANTES</b>	g/100g						
Wolffia sp.	96.87	9.3	1.44	9.1	7.1	73.06	358.93
Lemna minuscula	95.43	14.06	0.95	6.0	53.3	27.5	199.17
L. minuscula (c)	94.15	20.75	1.45	7.4	31.37	39.05	194.18
Pistia stratiotes	93.82	9.3	0.47	14.94	41.42	33.88	192.94
P. stratiotes (c)	95.45	17.29	1.28	14.27	24.39	42.77	239.24
Salvinia auriculata	95.26	13.22	0.36	27.93	22.3	36.19	223.53
S. auriculata (c)	92.17	10.0	0.93	26.35	22.91	39.82	225.01
Azolla mexicana	93.22	13.21	0.31	30.28	22.89	33.32	211.52
Eichhornia crassipes	94.01	9.7	0.42	21.63	16.3	51.93	267.06
<b>EMERGENTES</b>							
Pontederia lanceolata	87.48	12.69	0.71	17.75	17.75	41.31	244.32
Nymphaea ampla	90.29	24.36	2.56	13.98	13.98	47.44	352.93
Marsilea mexicana	89.64	9.3	0.35	28.03	28.03	43.83	231.37
Luwigia sedoides	88.03	8.0	1.73	11.34	11.34	67.09	330.51
Elecharis equisetoides	76.60	9.3	1.59	34.06	10.05	45.04	248.05
Hymenocallis caroliniana	88.25	8.1	1.57	23.22	13.52	53.57	275.42
<b>SUMERGIDAS</b>							
Chara sp.	96.17	9.1	0.61	14.29	28.77	47.22	256.55
Vallisneria mexicana	85.45	8.1	0.72	8.4	67.18	15.6	115.18

Fuente: Arredondo, F. (1993)

\*Extracto Libre de Nitrógeno

c = cultivadas

Las macrófitas acuáticas tienen altos contenidos de agua, lo que presenta inconvenientes tanto en la cosecha como en su utilización, por lo que se deben secar antes de usarse como posible alimento (Arredondo, F., 1993).

Otro aspecto importante que necesitamos conocer es la presencia de compuestos repelentes o desagradables, los cuales pueden ser selectivamente positivos para las plantas y a favor de su supervivencia evitando así a posibles depredadores. Tales compuestos son llamados antinutricios debido a que no aportan nutrientes al organismo y, consumidos en cantidad considerable, causan alguna reacción contraria a la normal en el metabolismo de quien las consume.

- **Glucósidos Cianogénicos:** Formados por un grupo de compuestos derivados de aminoácidos proteicos. De los 30-40 diferentes compuestos cianogénicos que se encuentran en las plantas, sólo siete han sido registrados en las monocotiledóneas. Estos son derivados de tres aminoácidos; tirosina, fenilalanina y leucina. Causa actividad antitiroidea por efecto del tiocianato produciendo bocio. Además el cianuro liberado a partir de los glucósidos cianogénicos ejerce una acción anoxiante al combinarse con el citocromo oxidasa. Del mismo modo, por acción directa del cianuro sobre el sistema nervioso central, puede causar perturbaciones neurológicas.

- **Alcaloides:** Estos compuestos son generalmente sintetizados a partir de aminoácidos esenciales, salvo algunas excepciones. Proporcionan gusto amargo a los alimentos. Su acción nicotínica deprime el sistema nervioso central y provoca la muerte por parálisis de los músculos respiratorios. Insensibiliza la mucosa digestiva y anula la sensación de hambre.

- **Saponinas:** Son los más importantes terpenoides en las monocotiledóneas, se encuentran en forma libre como glicósidos. Tienen la propiedad de causar hemólisis a las células sanguíneas si se consumen en gran cantidad.

- **Taninos:** Son compuestos poliméricos formados de flavonoides los cuales están ligados por enlaces ácidos lábiles. Dan propiedades astringentes por sus enlaces con proteínas proporcionando baja palatabilidad, así como aumentan la excreción fecal de nitrógeno (Gupta, K. and Wagle, D. S., 1988; Dahlgren, R. M. T., 1985).

## 2.5.- PROPIEDADES DE LAS PROTEÍNAS

Junto con el agua, las proteínas constituyen una parte fundamental de la materia viva. Debido a la escasez y a la importancia que tienen como nutrimento, las proteínas se han convertido en la principal preocupación en la industria de los alimentos.

Desde el punto de vista de la nutrición , las proteínas desempeñan un papel importante; son indispensables para cualquier individuo, en algunos casos pueden resultar muy tóxicas, como las toxinas de ciertos microorganismos, y en otros pueden provocar hipersensibilidad y alergia para quienes las consumen; por ejemplo la  $\beta$ -lactoglobulina de la leche y la ovoalbúmina del huevo. Estos biopolímeros están compuestos de carbono, hidrógeno, nitrógeno y, habitualmente azufre. Algunas contienen también hierro, cobre, fósforo o zinc.

Cuando las proteínas se solubilizan en agua adquieren dimensiones coloidales, son anfóteras, su hidrólisis completa produce una mezcla de aminoácidos y, en algunos casos, también de sustancias distintas a éstos. Dependiendo de los diferentes grupos R ionizables y del pH al que se encuentren, pueden desarrollar una carga positiva o negativa, y en ciertas condiciones, cuando llegan al punto isoelectrico (pI), neutra o de cero, al igual que ocurre con los aminoácidos en forma individual. Las proteínas con una alta concentración de los ácidos glutámico y aspártico tienen su pI en el lado ácido (como la mayoría de las proteínas), mientras que las ricas en lisina y arginina, lo tienen en el lado alcalino (lo tienen muy pocas, por ejemplo la lisozima y la avidina del huevo).

Entre las características de las proteínas son de importancia su capacidad anfotérica, diferente solubilidad, precipitación diferencial, hidrólisis, reacciones coloreadas y su capacidad de oxidorreducción. Gracias a estas características es posible separarlas, diferenciarlas, purificarlas y caracterizarlas (Badu, D. S., 1993; Fennema, R. O., 1993).

### 2.5.1.- AMINOÁCIDOS

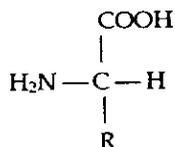
Los aminoácidos son las unidades estructurales básicas de las proteínas. Un  $\alpha$ -aminoácido consiste en un grupo aminos, un grupo carboxílico, un átomo de hidrógeno, y un grupo distintivo «R» enlazado al átomo de carbono que se llama carbono- $\alpha$ ; con excepción de la prolina que posee un grupo amino secundario y es, por tanto un  $\alpha$ -iminoácido.

Los aminoácidos en solución, a pH neutro, son predominantemente iones dipolares (switeriones) en vez de moléculas no iónicas. En la forma dipolar de un aminoácido el grupo amino está protonado ( $-\text{NH}_3^+$ ) y el grupo carboxilo está disociado ( $-\text{COO}^-$ ). El estado de ionización de un aminoácido varía con el pH. En solución ácida (pH=1), el grupo carboxílico no está ionizado ( $-\text{COOH}$ ) y el grupo amino está ionizado ( $-\text{NH}_3^+$ ). En solución alcalina (pH=11) el grupo carboxilo está ionizado ( $-\text{COO}^-$ ) y el grupo amino no está ionizado ( $-\text{NH}_2$ ). En el intervalo de pH fisiológico tanto los grupos de ácido carboxílico como los grupos amino de los  $\alpha$ -aminoácidos se hallan completamente ionizados. Un aminoácido puede actuar por esta razón como ácido o como base. Las sustancias que presentan esta propiedad se dice que son anfotéricas y se les designa como anfólitos (electrolitos anfotéricos) (Stryer, L., 1995).

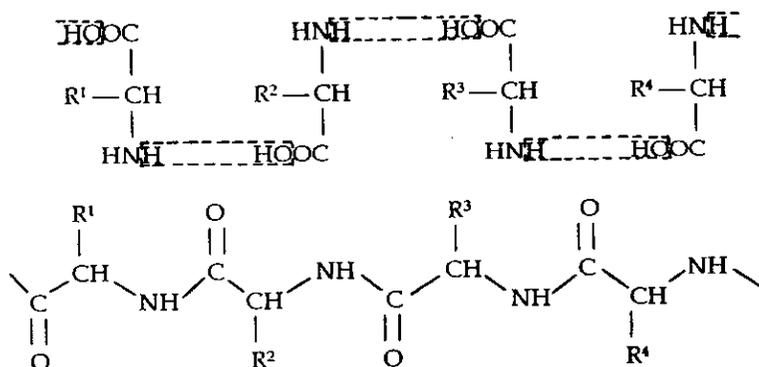
### 2.5.1.1.- ESTRUCTURA DE LOS AMINOÁCIDOS

Los  $\alpha$ -Aminoácidos se polimerizan mediante la eliminación de una molécula de agua. El enlace resultante CO-NH se conoce como enlace peptídico. Las proteínas son moléculas constituidas por una o más cadenas de polipéptidos, los cuales son polímeros lineales.

### Estructura general de un aminoácido



### Enlace peptídico

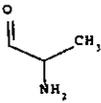
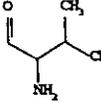
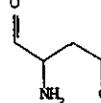
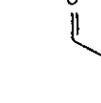
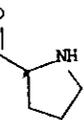
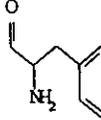
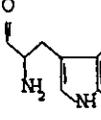
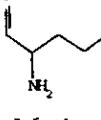
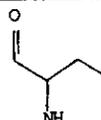
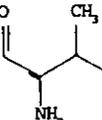
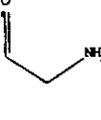
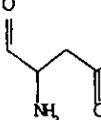
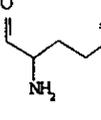
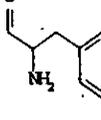
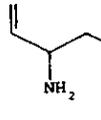
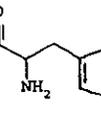
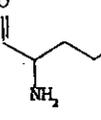
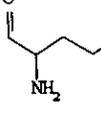
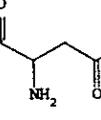
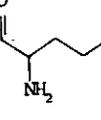


Son nueve los aminoácidos que se clasifican como poseedores de cadenas laterales no polares. La glicina posee la cadena lateral más pequeña, un átomo de H. La alanina, valina, leucina e isoleucina poseen cadenas laterales de hidrocarburo alifático. La metionina posee una cadena lateral de éter tiólico. La prolina, que es un  $\alpha$ -iminoácido cíclico, muestra un grupo lateral pirrolidino. La fenilalanina con su porción fenilo y el triptófano con su grupo indol, contiene grupos laterales aromáticos no polares.

Seis aminoácidos se clasifican como poseedores de cadenas laterales polares sin carga. Serina y treonina son portadoras de grupos R hidroxílicos de tamaños diferentes. Asparagina y glutamina poseen cadenas laterales portadoras de amida de diferentes tamaños. La tirosina posee un grupo fenólico. La cisteína tiene un grupo tiol y puede formar enlace disulfuro con otra cisteína por oxidación de sus grupos tiol. Este dímero se designa como cistina.

Cinco aminoácidos poseen cadenas laterales con carga. Los aminoácidos básicos están cargados positivamente a valores de pH fisiológico y comprenden a la lisina, que posee una cadena lateral de butilamonio, la arginina, que es portadora de un grupo guanidino y la histidina que es portadora de una porción de imidazolio. Los aminoácidos ácidos, ácido aspártico y ácido glutámico, se hallan cargados negativamente por encima de pH 3; en su estado iónico se mencionan como aspartato y glutamato. La asparagina y la glutamina son, respectivamente, las amidas de los ácidos aspártico y glutámico (Cuadro IV).

Cuadro IV. Estructura covalente de los aminoácidos.

Aminoácidos con cadenas laterales no polares			
			
Alanina	Valina	Leucina	Isoleucina
			
Prolina	Fenilalanina	Triptófano	Metionina
Aminoácidos con cadenas laterales polares sin carga			
			
Serina	Treonina	Glicina	Asparagina
			
Glutamina	Tirosina	Cisteína	
Aminoácidos con cadenas laterales con cargas positivas			
			
Histidina	Lisina	Arginina	
Aminoácidos con cadenas laterales con cargas negativas			
			
Ácido aspártico	Ácido glutámico		

Fuente: Lehninger, L. A. (1984)

Los 20 aminoácidos varían considerablemente en sus propiedades físico-químicas, tales como polaridad, acidez, basicidad, aromaticidad, tamaño, flexibilidad de su conformación, capacidad para establecer enlaces entrecruzados, capacidad para formar enlaces de hidrógeno y reactividad química. Estas diversas características, muchas de las cuales están interrelacionadas, son responsables en gran parte de la cantidad de propiedades que exhiben las proteínas.

Solamente los aminoácidos L son constituyentes de las proteínas. Veinte tipos de cadenas laterales de aminoácidos que varían en tamaño, forma, capacidad de enlace de hidrógeno y reactividad química, se encuentran comúnmente en las proteínas. Todas las proteínas de todas las especies, desde las bacterias al hombre, se construyen a partir del mismo conjunto de veinte aminoácidos (Baduí, D. S., 1993; Stryer, L., 1995; Voet, D. and Voet, J. G., 1992, Lehninger L. A., 1984).

### 2.5.2.- CLASIFICACIÓN DE LAS PROTEÍNAS

Las proteínas son macromoléculas complejas que conforman más del 50% del peso seco de las células, en cuya estructura y función juegan un papel muy importante. Son múltiples las que se han aislado y purificado. Existen diversos métodos para clasificarlas, pero los principales se basan en cuatro criterios fundamentales: composición, forma, solubilidad y función biológica (Cuadro II); cabe indicar que estos cuatro parámetros no son excluyentes, ya que se puede dar el caso de que un polímero llegue a estar incluido en todos (Baduí, D. S., 1993; Fennema, R. O., 1993).

**Cuadro II. Clasificación y propiedades de las proteínas.**

Clasificación	Propiedades	Ejemplo
<b>A. Por Composición:</b> 1.-Simple 2.-Conjugada a)Metaloproteínas b)Glucoproteínas  c)Fosfoproteínas  d)Lipoproteína e)Nucleoproteínas	Contiene sólo aminoácidos Contiene una fracción no proteica Pigmentos Contiene carbohidratos  Contiene fósforo  Contiene lípidos Contiene ácidos nucleicos	Insulina  Mioglobina, hemoglobina Inmunoglobulinas, caseína k, mucina Caseínas de la leche, flavo- proteínas, pepsina Lipovitulina. Virus, genes.
<b>B. Por Forma</b> 1.-Globular 2.-Fibrosa	Esféricas u ovoides Forman fibras de tejido conectivo Proteína de ligamentos y tendones Pelo, lana, uñas, cuernos Proteína muscular Coagulación de la sangre	Albúmina de huevo Colágena Elastina Queratina Miosina y actina Fibrinógeno
<b>C. Por Solubilidad</b> 1.-Albúminas 2.-Globulinas 3.-Histonas 4.-Glutelinas 5.-Prolaminas 6.-Escleroproteínas	Solubles en agua y soluciones salinas diluidas Poco solubles en agua, solubles en soluciones salinas Alto contenido de aminoácidos básicos. No coagulan por calor Insolubles en agua y alcohol Solubles en álcalis y ácidos libres Solubles en 70% de alcohol Insolubles en la mayoría de los disolventes	$\alpha$ -Lactalbúmina de leche y ovoalbúmina del huevo Miosina del músculo, globulina del plasma Proteínas unidas a ácidos nucleicos, nucleoproteínas Gluten del trigo  Zeína, gliadina Todas las proteínas clasificadas B-2 en este cuadro
<b>D. Por Función Biológica</b> 1.-Estructurales 2.-Enzimas 3.-Hormonas 4.-Toxinas 5.-Anticuerpos 6.-Transporte de O <sub>2</sub>	Forman parte estructural del cuerpo Catalizan reacciones biológicas Mensajeros químicos Proteínas dañinas Proteínas protectoras Transporta O <sub>2</sub> a los tejidos Almacén de O <sub>2</sub> en el músculo	Proteínas clasificadas B-2 Proteasa, lipasas Insulina, glucagón Toxina botulínica $\alpha$ -Globulina de la sangre Hemoglobina Mioglobina

Fuente: Badui, D. S., 1993.

### 2.5.3.- ESTRUCTURA DE LAS PROTEÍNAS

Al estudiar las proteínas se observa que presentan diferentes estados de ordenación o conformación dentro de su molécula que se engloban en lo que se conoce como las cuatro estructuras; las propiedades de estos polímeros, ya sean inmunológicas, enzimáticas, nutricionales, hormonales, etc., dependen fundamentalmente de su conformación, y la pérdida de ésta trae consigo modificaciones de estas propiedades. Las cuatro estructuras están estabilizadas por los diferentes tipos de uniones químicas: *a)* las uniones covalentes son las responsables del enlace peptídico y se producen como resultado de un reparto de electrones entre dos o más átomos; son de menor longitud y de mayor energía; *b)* las uniones de puentes salinos o iónicos se crean por atracción coulombica entre grupos cargados con signo opuesto, y son las uniones polares más fuertes que existen; *c)* las uniones con los puentes de hidrógeno aun siendo más débiles, desempeñan un papel muy importante; y *d)* las fuerzas atractivas de London-Van der Waals se establecen por la inducción de un momento dipolar entre grupos eléctricamente apolares.

La estructura primaria es la secuencia de aminoácidos y la localización de los enlaces disulfuro, si existe alguno. La estructura secundaria se refiere a la ordenación regular y periódica de las proteínas en el espacio, a lo largo de su eje o dirección, y que se estabiliza por diversas fuerzas, de las cuales las electrostáticas, los puentes de hidrógeno, las interacciones hidrófobas y las dipolo-dipolo son las más importantes. Algunas de estas relaciones estéricas son de un tipo regular, lo que da lugar a una estructura continua. La hélice  $\alpha$ , la hoja plegada  $\beta$  y la hélice del colágeno son algunos ejemplos.

La estructura terciaria se refiere a las relaciones estéricas de los residuos aminoácidos que están separados grandemente en la secuencia lineal se curvan o se doblan tridimensionalmente para producir una estructura estrechamente plegada y compacta, característica de las proteínas globulares. La estructura cuaternaria se refiere a la forma de asociación de dos o más cadenas (iguales o diferentes) a través de uniones no covalentes; pone de manifiesto la disposición en el espacio de las proteínas compuestas por más de una fracción (Baduí, D. S., 1993; Fennema, R. O., 1993; Stryer, L., 1995; Voet, D. and Voet, J. G., 1992).

#### 2.5.4.- SOLUBILIDAD DE LAS PROTEÍNAS

Los múltiples grupos ácido-base de una proteína determinan que sus propiedades de solubilidad dependan de la concentración de las sales disueltas, de la polaridad del disolvente, del pH y de la temperatura. Las diferentes proteínas varían mucho en sus solubilidades bajo ciertas condiciones.

a) **Concentraciones salinas:** La concentración de sal se expresa como fuerza iónica (I). La solubilidad de una proteína a una fuerza iónica determinada varía con el tipo de iones que se hallan en la disolución, debiéndose esto, en modo aparente, al tamaño de los iones y a la hidratación. La solubilidad de una proteína cuando la I es pequeña aumenta, en general, con la concentración de la sal.

Esto quiere decir que a medida que aumenta la concentración de sal en la disolución de proteína los contraiones recubren con más eficacia a las múltiples cargas iónicas de las moléculas de proteína incrementándose, por ello, la solubilidad de la proteína. La precipitación por salado es una consecuencia de la competencia entre los iones de la sal que se han añadido y los demás solutos disueltos por las moléculas de solvatación. Cuando las concentraciones de sal son altas, se han solvatado tanto los iones que se han añadido, que la cantidad de disolvente de que se dispone llega a ser insuficiente para disolver otros solutos, por tanto la actividad del disolvente disminuye. De aquí que las interacciones soluto-soluto se hacen más fuertes que las interacciones soluto-disolvente y el soluto precipita. El sulfato de amonio es el reactivo más utilizado para separar y recuperar proteínas a partir de sus soluciones.

b) **Disolventes orgánicos:** Los disolventes orgánicos, tales como acetona y etanol, son buenos precipitantes de proteínas ya que por sus constantes dieléctricas pequeñas provocan la disminución del poder de solvatación de sus disoluciones acuosas respecto a los iones disueltos, entre ellos los de las proteínas. Estos disolventes compiten también por las moléculas de agua, por lo que reducen aún más la solubilidad de las proteínas. Se emplean a 0°C o a temperatura inferior, ya que si estas son altas los disolventes orgánicos tienden a desnaturalizar a las proteínas. La disminución de la constante dieléctrica por los disolventes orgánicos aumenta también las diferencias en el comportamiento de la precipitación por salado de las proteínas.

c) **pH:** Cada proteína muestra un valor de pH característico en el que las cargas positivas de la molécula se contrarrestan exactamente con las cargas negativas. A este valor de pH, que es el punto isoeléctrico (pI) de la proteína, la molécula no es portadora de carga neta y permanece inmóvil en un campo eléctrico. A valores de pH superiores o inferiores al punto isoeléctrico, la proteína arrastra una carga eléctrica positiva o negativa, las moléculas de agua pueden interaccionar con estas cargas, contribuyendo así a la solubilización. La solubilidad y, por tanto, el rendimiento de la extracción es mayor a pH alcalino que a pH ácido. De hecho, el número de restos negativamente cargados a  $\text{pH} > \text{pI}$  (ácidos aspártico y glutámico) es mayor que el número de restos negativamente cargados a  $\text{pH} < \text{pI}$  (lisina, por ejemplo).

d) **Cristalización:** Cuando se ha llevado una proteína hasta un estado de pureza razonable, es posible conseguir su cristalización. Este objetivo se consigue llevando la disolución de la proteína hasta un poco más allá del punto de saturación, con los tipos de precipitantes que se han comentado anteriormente. Se deja en reposo durante un tiempo (minutos o hasta meses), mientras se aumenta el agente precipitante, la proteína precipita de su disolución en forma cristalina. Aunque la capacidad de cristalizar una proteína no es una indicación segura de que es pura. Por el contrario, muchas proteínas muy purificadas han resistido todos los esfuerzos para cristalizarse. Muchas proteínas solubles se han preparado en forma cristalina: las globulinas de las semillas vegetales, la ovoalbúmina, varias enzimas, hormonas proteicas (insulina) y varios virus (Fennema, R. O., 1993; Stryer, L., 1995; Voet, D. and Voet, J. G., 1992; Lehninger, L. A., 1984).

## 2.5.5.- REACCIONES COLORIDAS

Después del procedimiento de extracción de la proteína, se debe saber la cantidad de ésta presente en el concentrado. Por tal motivo se emplean varios métodos para medir las reacciones de los diversos grupos funcionales de los aminoácidos y de las proteínas, entre los más utilizados están:

\* *Reacción de Biuret*: Esta reacción involucra un reactivo de cobre fuertemente alcalino el cual produce una coloración púrpura con la proteína. La principal razón por la que no es muy usado por los investigadores es su baja sensibilidad. El método da valores poco exactos ya que el color varía de proteína a proteína. Esto es porque el reactivo de cobre reacciona con la cadena peptídica en vez de los grupos laterales.

El amonio interfiere por formar complejo con el cobre, por tal motivo las fracciones de sulfato de amonio no dan resultados exactos. La reacción es característica de las sustancias que poseen dos grupos  $-NH-CO-$  unidos directamente o separados por un átomo de carbono o de nitrógeno.

\* *Método de Lowry*: Es una combinación de la reacción de cobre usada en el método de Biuret y la reacción del reactivo de Folin-Ciocalteu con fenoles como la tirosina de las proteínas, dando un fuerte color azul oscuro. El método mide rangos de concentraciones del reactivo para determinar valores reales.

\* *Absorción UV*: Las proteínas con estructura aromática absorben a 280 nm y los residuos peptídicos absorben a 205-220 nm. La absorción a 280 nm da solo una idea del contenido real de proteína. El solvente empleado no debe absorber a esta longitud de onda, en caso contrario es necesario usar un blanco como referencia.

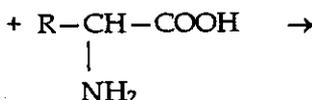
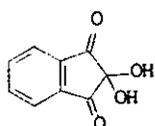
\* *Enlace Colorido (Dye Binding)*: Este método es muy sensitivo, rápido y tan exacto como el de Lowry. El único inconveniente es la tinta que absorbe el material de vidrio y las celdas e inclusive la piel. El colorante que se usa es el Azul de Coomassie G-520. Este se disuelve en un ácido fuerte, volviéndose rojo oscuro por la protonación, pero cuando los puentes de la proteína son positivamente cargados, se restablece el color azul debido al cambio de pKa con el enlace del azul de Coomassie. La muestra de proteína se adiciona al reactivo y se mide el color azul a 595 nm. Como el método es un proceso de puentes en equilibrio, la respuesta es no lineal, pero se aproxima a una hipérbola.

\* *Ácido Bicincónico (BCA)*: Involucra reacciones de la proteína con el cobre, el cual es reducido y entonces se combina con ácido bis-cincónico para producir una coloración púrpura. El reactivo es compatible con algunos detergentes, pero agentes fuertemente reductores interfieren.

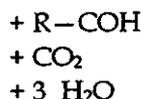
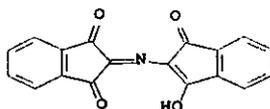
\* *Reacción con la Ninhidrina*: La ninhidrina reacciona con los aminoácidos, lo que permite su determinación colorimétrica (y eventualmente fluorométrica). La reacción se realiza en caliente y conduce a la formación de complejos de color azulado o violeta.

La prolina da derivados amarillos. Intervienen numerosas reacciones y entre ellas se puede mencionar la siguiente:

Ninhidrina



Púrpura de Ruhemann

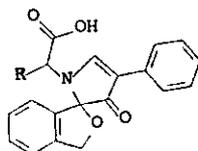
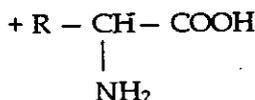
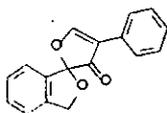


La formación de derivados púrpura o violeta depende de la naturaleza del aminoácido. La identificación y dosificación de los aminoácidos se realiza haciendo reaccionar la ninhidrina con el eluyente cromatográfico de un hidrolizado de proteína para medir después la absorbancia a dos longitudes de onda diferentes (por ejemplo, 440 y 570 nm).

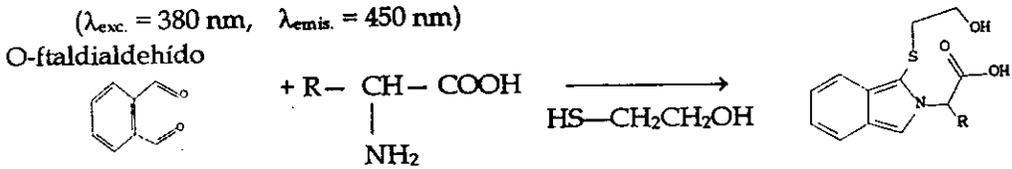
\* *Reacción con la Fluorescamina:* Este compuesto reacciona con las aminas primarias, lo que conduce a la formación de derivados fuertemente fluorescentes. Esto permite la determinación cuantitativa rápida y sensible de los aminoácidos, péptidos y proteínas.

( $\lambda_{\text{exc.}} = 390 \text{ nm}$ ,  $\lambda_{\text{emis.}} = 475 \text{ nm}$ )

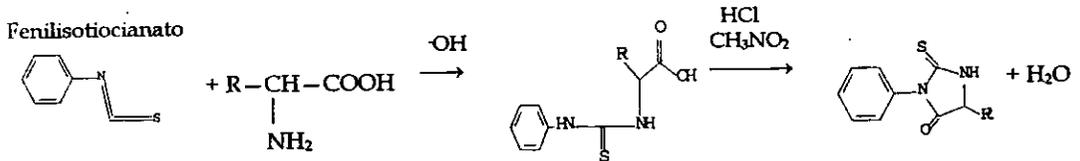
Fluorescamina



\* *Reacción con el O-ftaldialdehído:* Como reactivo de aminas primarias, el O-ftaldialdehído da con los aminoácidos derivados isoindólicos muy fluorescentes.

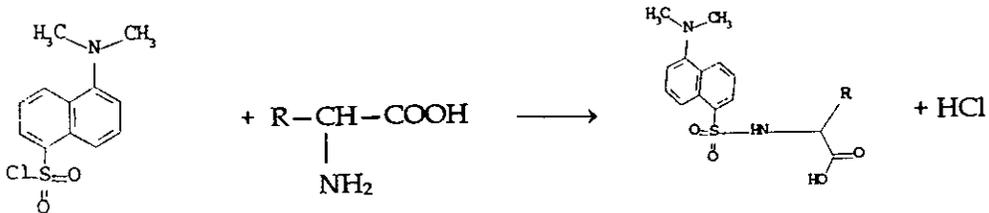


\* *Reacción con el fenilisotiocianato (Reacción de Edman):* Separa secuencialmente un residuo cada vez del extremo amínico del péptido sin destruir los enlaces peptídicos entre los otros aminoácidos. Esta reacción puede automatizarse en un analizador continuo de proteínas.



\* *Reacción con el Cloruro de Dansilo:* El cloruro de Dansilo reacciona con los grupos amínicos para formar derivados sulfonamida altamente fluorescentes.

Cloruro de Dansilo



\* *Reacción Xantoproteica*: Cuando se calienta una solución con proteínas en presencia de  $\text{HNO}_3$  concentrado, se obtiene un precipitado blanco que pronto se torna amarillento. El agregado de álcali o amoníaco concentrado torna al precipitado de color naranja. Esta reacción se debe a la presencia de grupos aromáticos como los que están en fenilalanina, tirosina y triptófano (Scopes, R. K., 1994; Cheftel, J. C. et al, 1989; Lehninger. L. A., 1984)

### 2.5.6.- CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS DE LAS PROTEÍNAS

El término propiedad funcional que se aplica a los ingredientes alimenticios, se define como toda propiedad no nutricional que influencia la utilidad de un ingrediente en un alimento. La mayor parte de las propiedades funcionales (Cuadro III) influyen sobre el carácter sensorial del alimento (en especial la textura), pero también pueden tener un papel decisivo en el comportamiento físico de los alimentos o de los ingredientes alimenticios durante su preparación, transformación o almacenamiento.

Las propiedades funcionales de las proteínas alimenticias, pueden clasificarse en tres grupos principales:

- *Propiedades de hidratación (depende de las interacciones proteína-agua)*: Incluye propiedades tales como absorción y la retención de agua, succulencia, hinchado, adhesión, dispersibilidad, solubilidad y viscosidad.

- *Propiedades dependientes de las interacciones proteína-proteína*: Intervienen fenómenos tales como la precipitación, gelificación y formación de otras estructuras diferentes (fibras y pastas proteicas).

- *Propiedades superficiales*: Se refiere a la tensión superficial de emulsificación y características espumantes de las proteínas.

El mejor conocimiento de la funcionalidad de una proteína, puede entenderse cuando el constituyente proteico del sistema teórico a ensayar es una proteína única, purificada y de estructura natural conocida. Vale la pena resaltar que todas las proteínas están compuestas por los mismos aminoácidos; lo específico de cada proteína y lo que la dota de las propiedades químicas y conformacionales necesarias para expresar una actividad estructural, biológica o tóxica singular es la proporción que entre sí guardan y la secuencia de los aminoácidos (Baduí, D. S., 1993; Fennema, R. O., 1993; Cheftel, J. C., et al, 1989).

Cuadro III. Propiedades Funcionales de las Proteínas.

Alimento	Propiedades Funcionales
Bebidas	Solubilidad a pH diferentes, estabilidad al calor, viscosidad
Potajes, salsas	Viscosidad, emulsificación, retención de agua
Masa de panadería	Formación de una matriz y de una película que tenga propiedades de viscoelasticidad, cohesión, desnaturalización por calor, gelificación
Productos de panadería y de pastelería (pan, bizques)	Absorción de agua, emulsificación, espumado, pardeamiento
Productos lácteos (queso fundido, helados, postres)	Emulsificación, retención de materia grasa, viscosidad, espumados, gelificación, coagulación
Reemplazantes de huevo	Espumado, gelificación
Productos cárnicos (salchichas)	Emulsificación, gelificación, cohesión, absorción y retención de agua y de materia grasa
Productos similares a la carne (proteínas vegetales extruídas)	Absorción y retención de agua y de materia grasa, insolubilidad, firmeza, masticabilidad, cohesión
Recubrimientos alimenticios	Cohesión, adhesión
Productos de confitería y chocolates	Dispersabilidad, emulsificación

Fuente: Cheftel, J. C., et al, (1989)

### 2.5.7.- PURIFICACIÓN DE LAS PROTEÍNAS

La purificación de una proteína es una etapa indispensable para explicar su mecanismo de acción. Un gran número de proteínas han sido aisladas en forma pura. Las proteínas pueden ser separadas entre sí y de otros tipos de moléculas sobre las siguientes características: el tamaño, la solubilidad, la carga y la afinidad específica de enlace.

La separación sobre el tamaño también se consigue por la técnica de cromatografía de filtración por gel, la cual se utiliza también para la determinación de las masas moleculares. En esta cromatografía, que también se llama cromatografía de exclusión por tamaños o cromatografía de tamiz molecular, las moléculas se separan de acuerdo con sus tamaños y sus formas.

En el proceso de cromatografía de intercambio iónico, los iones que están unidos electrostáticamente a una matriz insoluble e inerte químicamente son sustituidos de modo reversible por los iones en disolución. La afinidad con la que un polielectrolito concreto se une a un cambiador iónico determinado, depende de las identidades y de las concentraciones de los demás iones presentes en la disolución, debido a la competencia entre los diversos iones por los sitios de unión sobre el intercambiador iónico. Las afinidades de unión de los polielectrolitos portadores de grupos ácido-base dependen también del pH ya que sus cargas netas varían con dicho valor. Las proteínas con afinidades relativamente bajas por el intercambiador iónico se desplazarán en la columna más rápido que las proteínas que se unen al intercambiador iónico con afinidad superior.

La cromatografía en papel se emplea normalmente en la separación de moléculas pequeñas tales como aminoácidos y oligopéptidos. En este método las moléculas se separan de acuerdo con sus polaridades, siendo las moléculas no polares las que se mueven con mayor rapidez que las polares. Para un sistema disolvente dado y un tipo de papel, cada sustancia tiene un valor de  $R_f$  característico.

En la cromatografía de afinidad una molécula conocida como ligando se junta por covalencia a una matriz inerte y porosa (fase estacionaria a la que se une específicamente la proteína que interesa). Cuando se hace atravesar a través de este material cromatográfico una disolución de proteína impura, la proteína deseada se enlaza al ligando inmovilizado mientras que las demás sustancias son eliminadas de la columna con el tampón. La proteína deseada puede recuperarse entonces en forma muy purificada, variando las condiciones de elución de modo que se libere la proteína de la matriz cromatográfica.

En la electroforesis, las moléculas con carga se separan de acuerdo con sus velocidades de emigración en un campo eléctrico, sobre un soporte sólido tal como papel, acetato de celulosa, geles de poliacrilamida con enlaces entrecruzados o de agarosa.

La diálisis es un proceso que separa moléculas de acuerdo con su tamaño, mediante el empleo de membranas semipermeables que contienen poros de dimensiones inferiores a las macromoleculares. Estos poros permiten que moléculas pequeñas tales como las de los disolventes, sales y metabolitos pequeños, se difundan a través de la membrana pero bloqueen el tránsito de moléculas mayores. Se emplea rutinariamente para cambiar el disolvente en el que se encuentran disueltas las macromoléculas.

En la ultrafiltración se obliga a una disolución macromolecular a pasar por un disco o un saco membranoso semipermeable mediante presión. El disolvente y los solutos pequeños atraviesan la membrana quedando detrás una disolución macromolecular más concentrada. Se emplea también para separar macromoléculas de tamaños diferentes.

Existen otras técnicas de separación de proteínas tales como la cromatografía de absorción que separa sustancias no polares, la cromatografía con gel de hidroxapatito cristalino que separa proteínas, la cromatografía en capa delgada que se emplea para separar moléculas orgánicas, la cromatografía en fase reversa que separa sustancias no polares, la cromatografía de gas-líquido que separa sustancias volátiles, la separación por HPLC y cromatografía de interacción hidrofóbica (Stryer, L., 1995; Voet, D. and Voet, J. G., 1992).

### 2.5.8.- DESNATURALIZACIÓN DE LAS PROTEÍNAS

La conformación de una proteína, ligada a su estructura secundaria y terciaria, es lábil. Por ello el tratamiento que se les puede modificarlas. Por desnaturalización proteica se entiende cualquier modificación de la conformación (secundaria, terciaria o cuaternaria) que no vaya acompañada de la ruptura de enlaces peptídicos, implicados en la estructura primaria.

La baja estabilidad de la constitución de las proteínas las hace muy susceptibles a la desnaturalización, al alterarse el equilibrio de las débiles fuerzas no enlazantes que mantienen la estructura nativa. Cuando se calienta una proteína en disolución, sus propiedades conformacionales sensibles, tales como la rotación óptica, la viscosidad y la absorción UV, varían abruptamente en un intervalo muy limitado de temperatura. Estos cambios discontinuos indican que la estructura de la proteína nativa se despliega de manera cooperativa. Cualquier desplegamiento parcial de la estructura desestabiliza la estructura restante que debe colapsarse simultáneamente hasta adoptar el arrollamiento al azar.

Además de las temperaturas elevadas, las proteínas se desnaturalizan por otras condiciones y sustancias:

^ Las variaciones de pH alteran los estados de ionización de las cadenas laterales de los aminoácidos, lo que cambia la distribución de carga de la proteína y los requerimientos para el enlace de hidrógeno.

^ Los detergentes, algunos de los cuales perturban de modo significativo las estructuras de las proteínas a concentraciones tan bajas como  $10^{-6}M$ , se asocian hidrofólicamente con los restos no polares de una proteína, interfiriendo, por tanto, con los enlaces hidrofóbicos responsables de la estructura nativa.

▲ Las concentraciones elevadas de sustancias orgánicas solubles en el agua, tales como los alcoholes alifáticos, interfieren con las fuerzas hidrofóbicas que estabilizan las estructuras de la proteína mediante sus propias interacciones hidrofóbicas con el agua. Sin embargo, las sustancias orgánicas son desnaturizantes relativamente débiles, porque su capacidad para establecer enlaces de hidrógeno los convierte en agentes con escasa capacidad para romper la estructura del agua.

▲ Ciertas sales, como  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  y  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , estabilizan la estructura de la proteína nativa (elevan su  $T_m$ ); otras, como  $\text{KCl}$  y  $\text{NaCl}$ , ejercen poco efecto, y aun otras, como  $\text{KSCN}$  y  $\text{LiBr}$ , la desestabilizan. El orden de eficacia de los diversos iones en la estabilidad de una proteína, que es ampliamente independiente de la identidad de la proteína, mantiene paralelismo con su capacidad para precipitar a las proteínas por salado.

Este orden se conoce como las series de Hofmeister:

Aniones:  $\text{SO}_4^{2-} > \text{H}_2\text{PO}_4^- > \text{CH}_3\text{COO}^- > \text{Cl}^- > \text{Br}^- > \text{I}^- > \text{ClO}_4^- > \text{SCN}^-$

Cationes:  $\text{NH}_4^+, \text{Cs}^+, \text{K}^+, \text{Na}^+ > \text{Li}^+ > \text{Mg}^{2+} > \text{Ca}^{2+} > \text{Ba}^{2+}$

Los iones de las Series de Hofmeister que tienden a desnaturizar a las proteínas,  $\text{I}^-$ ,  $\text{ClO}_4^-$ ,  $\text{SCN}^-$ ,  $\text{Li}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Ba}^{2+}$ , se dice que son caotrópicos.

Los agentes caotrópicos aumentan la solubilidad de las sustancias no polares en el agua. Por consiguiente, su eficacia como desnaturalizantes descansa en su capacidad para romper las interacciones hidrofóbicas, aunque la forma como lo efectúan aun no está muy claro. Recíprocamente, aquellas sustancias relacionadas que estabilizan las proteínas fortalecen las fuerzas hidrofóbicas, aumentando de esta manera la tendencia del agua a expulsar a las proteínas. Ello explica la correlación entre las capacidades de un ión para estabilizar a las proteínas y para precipitarlas por salado (Stryer, L., 1995; Fernema, R. O., 1993; Voet, D. and Voet, J. G., 1992).

## 2.6.- PROTEÍNA DE HOJAS

Debido a la creciente demanda mundial de proteínas, en los últimos años se han desarrollado muchas tecnologías encaminadas a producirlas en abundancia y a un bajo costo; para este fin, se ha recurrido a distintas fuentes que tradicionalmente no se han empleado para el consumo humano, pero que tienen un gran potencial para este fin.

Entre éstas destacan la soya (aún cuando en el Oriente es un alimento tradicional), el pescado y algunos granos, además de otras menos difundidas, o que están en desarrollo, como son la llamada proteína unicelular (proveniente del alga azul-verde, *Spirulina*) y a las proteínas provenientes de las hojas (Baduí, D. S., 1993).

Las plantas son fuente directa e indirecta de todos los alimentos, esencialmente porque son capaces de usar la energía solar y de realizar varias síntesis químicas, las cuales no pueden ser llevadas a cabo por los animales. Por medio de la fotosíntesis, usando la energía solar para sintetizar carbohidratos y fijación de nitrógeno, base de la síntesis proteica. El mayor consumo de plantas se relaciona a cereales, legumbres, tubérculos, los cuales han sido la principal fuente de fibra en la dieta (Arthey, D. and Dennis, C., 1991).

Las verduras foliáceas poseen altos contenidos de humedad (80 a 90 % o aún más) y se caracterizan por tener proteína protoplásmica mas que de almacenamiento. El contenido de proteína es del orden del 1 al 4 % y en raras ocasiones llega al 5 o 6 %, los carbohidratos totales oscilan entre el 3 y 5 %, de los cuales el 0.5 al 1 % es fibra bruta (2 a 4 % de fibra dietética). El contenido de cenizas es generalmente menor del 1 %. La composición nutritiva depende mucho de la luz, estación, localización, fertilización y características genéticas de la planta (Muller, H. G. y Tobin, G., 1991).

## **2.7.- CONCENTRADOS DE PROTEÍNA FOLIAR. USO E IMPORTANCIA**

En vista del aumento de la falta de proteína comestible, la producción de alimentos nuevos, baratos y biológicamente aceptables es de gran importancia. Por tal motivo el buscar nuevas alternativas para cubrir las necesidades alimenticias es de sumo interés en el campo de la nutrición. La inadecuada suplementación de proteína de buena calidad para consumo humano constituye uno de los mayores retos de esta era.

La proteína foliar aporta buen potencial como suplemento proteico. La cantidad de material foliar que puede ser ingerido por el hombre y los animales es limitada debido a la presencia de fibra y sustancias tóxicas. Para facilitar su consumo, la proteína foliar debe ser extraída, minuciosamente lavada y concentrada (Bhanu, N. V.; et al., 1991; Betschart, A. and Kinsella, J. E., 1973).

Las proteínas de reserva de las plantas (en peso seco) predominan sobre cualquier otro tipo de proteínas y tienen gran influencia en la composición de aminoácidos. Actualmente se han desarrollado técnicas de mutación que permiten obtener proteínas de reserva de fuentes vegetales ricas en algún aminoácido esencial como lisina, por ejemplo. Por esta razón es necesaria una investigación profunda de las características químicas de las proteínas de origen vegetal y su contribución al contenido del nitrógeno total, así como de su calidad nutritiva. El estudio de la naturaleza de las proteínas de reserva de origen vegetal se inicia con la información obtenida de su aislamiento y caracterización química (Soriano-Santos, J. y Córdoba-Salgado, M. A., 1995).

El valor nutritivo y simplicidad de extracción de proteína de la parte saliente de la planta, en este caso las hojas, puede ser utilizada como alimento para animales y para la producción de concentrados de proteína foliar, la cual se podría emplear como complemento alimenticio en animales o humanos, así como incluidas en fórmulas alimenticias (Ercoli, L.; et al., 1992; Hernández, T.; et al., 1995b; Setälä, J. and Syrjälä-Qvist, L., 1984/85).

En la industria de los alimentos varias propiedades funcionales como solubilidad, propiedades ligantes con agua y grasa, emulsificantes, espumantes y propiedades viscoelásticas son requeridas para conformar nuevos ingredientes proteicos (Kim, N.; et al, 1992; Betschart, A. and Kinsella, J. E., 1973; Hanczakowski, P.; et al., 1991).

## **2.8.- MÉTODOS DE OBTENCIÓN DE CONCENTRADOS DE PROTEÍNA FOLIAR**

La proteína vegetal puede ser obtenida de dos tipo de fuentes, normalmente semillas y las hojas de varias plantas que las contienen. Mientras que la proteína de las semillas, como la soya y el cacahuate, tienen gran aplicación en la industria de los alimentos, las proteínas foliares, las cuales existen en asociación con pigmentos verdes (clorofilas), no se utilizan precisamente por su color. Existen varios métodos para extraer proteína foliar incolora pero no son muy satisfactorios para aplicarse a nivel industrial por el costo que implica llevarlos a cabo.

La obtención de concentrados proteicos implica la separación selectiva de dos fracciones la citoplásmica y cloroplástica presentes en el jugo. Los métodos de separación primaria son por ultracentrifugación, tratamiento térmico o floculación por solventes orgánicos y polielectrolitos.

La separación por medio de calor de dos fracciones proteicas es posible debido al hecho de que las proteínas cloroplásticas coagulan más rápido a bajas temperaturas que las proteínas solubles (Hernández, A. y Martínez, C., 1988a).

Los concentrados de proteína foliar deben estar libres de clorofila para que sean aceptados y se puedan emplear para consumo humano. Tales concentrados pueden ser obtenidos por dos métodos diferentes. Uno es separar las proteínas blancas solubles de las insolubles pigmentadas, aunque este método presenta la desventaja de producir baja cantidad de concentrados de proteína blanca. Otro método para obtener todo el concentrado proteico es por extracción con solventes orgánicos, de este método resulta un alto rendimiento y el extracto concentrado puede ser almacenado por largo tiempo sin necesidad de bajas temperaturas o libre de oxígeno. El método más común descrito en la literatura es la separación de proteína verde por tratamiento térmico, seguido por precipitación ácida de las proteínas blancas en el jugo libre de clorofila (Hernández, T.; et al., 1995b; Hernández, T.; et al., 1995a; Hernández, T.; et al., 1997; Hernández, A.; et al.; 1989; Lu, C. D.; et al., 1981).

El jugo congelado produce una cuajada, la cuál contiene 50% de la materia seca y 60% del nitrógeno presente en el jugo original. La extracción del cuajado con alcohol isopropílico (2-Propanol) produce concentrados con alto contenido proteico y un mínimo contenido de lípidos y polifenoles, y una textura y color similares a las del concentrado proteico blanco (Hernández, T.; et al., 1995b; Hernández, T.; et al., 1995a).

El efecto de la extracción con solventes polares y no polares a temperatura ambiente de los concentrados (se reporta extracción con 2-propanol, etanol, acetona o butanol) mejora la cantidad de proteína.

Las variantes que afectan el tratamiento con calor son temperatura, tiempo de calentamiento y el pH del extracto. La temperatura de coagulación de las proteínas varía entre 45 y 60°C dependiendo del tipo de proteína presente en la planta. Cuando la temperatura y/o el tiempo de calentamiento se incrementa, la desnaturalización de las proteínas solubles en el sobrenadante se incrementa. Aunque puede haber discrepancias debido a que en la literatura se han reportado temperaturas de hasta 100°C según Woodham y col. citado por Hernández, A. y Martínez, C. (1988a). Se recomienda mantener en medio alcalino la reacción durante el proceso para intensificar la solubilidad de la proteína e inhibir la degradación proteolítica. Por otro lado, la coagulación a pH alcalino nos ayuda a reducir el contenido de saponinas del concentrado. Se encontró que el decremento del pH de 4 a 3.5 incrementa la cantidad del concentrado obtenido pero decrece su contenido proteico, no obstante estos valores de pH son usados igualmente por varios investigadores (Hernández, A.; et al., 1989; Hernández, A. y Martínez, C., 1988a; Lu, C. D.; et al., 1981; Hernández, A.; et al., 1988b).

En estos concentrados para ser apropiados para consumo humano, todos sus nutrientes, incluyendo fibra dietética, deben ser identificados. De cualquier modo, hay pocos datos reportados en la literatura que son referencias disponibles para fibra, un parámetro que afecta significativamente el manejo y proceso el cual no incluye toda la materia fibrosa presente en la muestra.

Robertson y Van Soest, citados por Hernández, T.; et al. (1995b) reportaron que su método no produce resultados precisos para muestras con contenidos proteicos de más de 300g/kg, lo cual lo atribuyen a la habilidad limitante del detergente a formar complejos solubles con las proteínas. No obstante, esta dificultad no es igual en el caso del concentrado, el cual sugiere que la causa está más relacionada en el paso con la extracción con alcohol isopropílico que con el alto contenido proteico de las muestras.

Se conoce que el tratamiento con alcohol puede causar interacciones entre las proteínas, almidón y polisacáridos de la pared celular, así como alterar las propiedades de esos componentes, haciendo uso de una hidrólisis enzimática necesariamente para llevar a cabo la solubilización.

Se recomienda la hidrólisis de las proteínas a pH 1.5 por 18 hrs. para completar la hidrólisis. Se propone reducir el tiempo a 1hr. por dos razones, normalmente, para disminuir el tiempo de análisis y para evitar el rompimiento parcial de los ácidos libres de los polisacáridos durante la incubación. No obstante, cuando el tiempo de incubación es menor, la cantidad de proteína en el residuo de fibra insoluble se incrementa. En este caso, la hidrólisis enzimática de las proteínas puede no ser completa, y las proteínas salientes en los residuos de fibra cruda no sería indicativo de las proteínas enzimáticamente indigestibles en la muestra.

Mientras que el contenido de proteína es más alto en el residuo de fibra insoluble, indicativo de que las proteínas están relacionadas con la fracción de ésta fibra, las proteínas residuales en ambos casos (fibra soluble e insoluble) es considerada

indigestible, y la cuantificación de tal proteína puede ser muestra del grado de digestibilidad de proteína en la muestra. Los valores de fibra cruda de los concentrados dependen del tipo de concentrado. (Chanda, S.; et al., 1991; Hernández, T.; et al., 1995b).

### 3.- JUSTIFICACIÓN

Actualmente se está dando considerable atención hacia el desarrollo de nuevos alimentos suplementados con concentrados proteínicos de origen vegetal de alta calidad nutricional y bajo costo, ya que uno de los problemas más comunes es, sin duda, la desnutrición ocasionada por una deficiencia de proteínas en la alimentación humana. Este problema no se presenta frecuentemente en un país donde existen suministros abundantes de alimentos de origen animal, pero en países subdesarrollados como México, este problema es evidente. Esto ha motivado el centrar la atención en los alimentos de origen vegetal, con grandes perspectivas en cuanto a su utilización en la alimentación humana y animal. Por lo tanto, una parte importante dentro de esta investigación para obtener concentrados de proteína foliar de plantas acuáticas, es la caracterización química de éstas que nos proporcione la información necesaria para saber si son de calidad y comestibles.

indigestible, y la cuantificación de tal proteína puede ser muestra del grado de digestibilidad de proteína en la muestra. Los valores de fibra cruda de los concentrados dependen del tipo de concentrado. (Chanda, S.; et al., 1991; Hernández, T.; et al., 1995b).

### 3.- JUSTIFICACIÓN

Actualmente se está dando considerable atención hacia el desarrollo de nuevos alimentos suplementados con concentrados proteínicos de origen vegetal de alta calidad nutricional y bajo costo, ya que uno de los problemas más comunes es, sin duda, la desnutrición ocasionada por una deficiencia de proteínas en la alimentación humana. Este problema no se presenta frecuentemente en un país donde existen suministros abundantes de alimentos de origen animal, pero en países subdesarrollados como México, este problema es evidente. Esto ha motivado el centrar la atención en los alimentos de origen vegetal, con grandes perspectivas en cuanto a su utilización en la alimentación humana y animal. Por lo tanto, una parte importante dentro de esta investigación para obtener concentrados de proteína foliar de plantas acuáticas, es la caracterización química de éstas que nos proporcione la información necesaria para saber si son de calidad y comestibles.

#### **4.- OBJETIVO GENERAL**

- Caracterización química y obtención de concentrados de proteína foliar de siete plantas acuáticas presentes en el Parque Ecológico de Xochimilco, D. F.

##### **4.1.- OBJETIVOS PARTICULARES**

- Determinación de la composición química de las plantas acuáticas evaluando: Análisis químico aproximado, minerales, fracciones de fibra, digestibilidad multienzimática *in vitro*, proteína verdadera, energía bruta y factores antinutricios.
- Obtención de concentrados de proteína foliar.
- Análisis químico de los concentrados de proteína foliar: proteína cruda, proteína verdadera y aminograma.

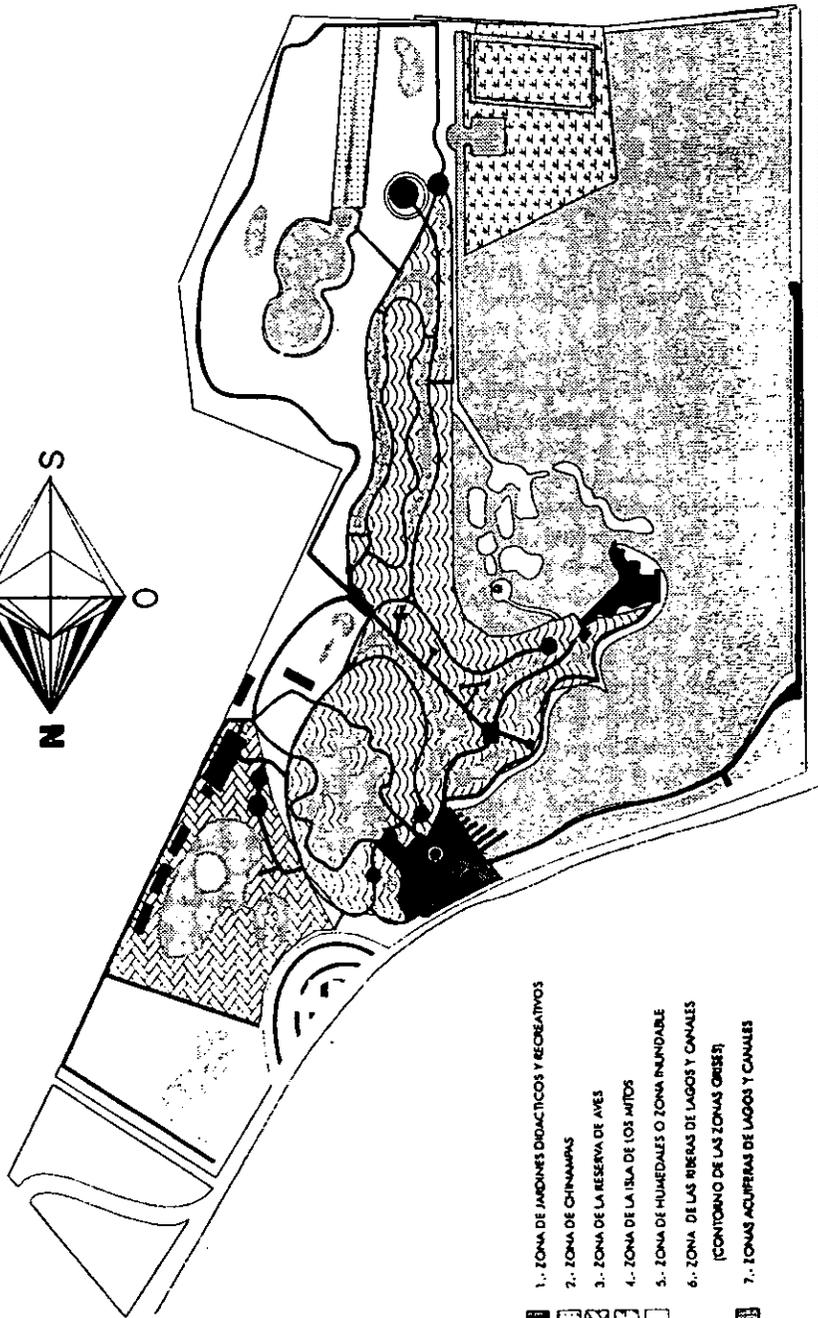
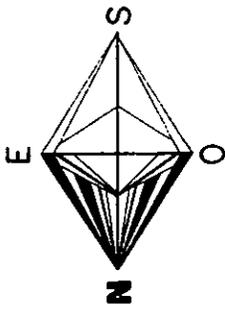
## 5.- MATERIALES Y MÉTODOS

### 5.1.- OBTENCIÓN DE LAS PLANTAS ACUÁTICAS

La recolección de muestras se efectuó en el Parque Ecológico de Xochimilco. Este Parque se encuentra situado en la zona sureste del Distrito Federal, en la Delegación Xochimilco, al pie de la Sierra Chichinautzin, entre los paralelos 19°05'00" y 19°17'20" de Latitud Norte y el meridiano 99°04'00" de Longitud Oeste, a una Altitud de 2,238 msnm. Colinda al Norte con el Periférico Sur, al Este con el Canal de Chalco, al Sur con el Canal del Bordo y al Oeste con el Canal de Cuemanco en la Colonia Ciénaga Grande (Figura I).

El clima que predomina, según la clasificación de Kôeppen (García, E.; 1973) es C (w<sub>1</sub>)(w), templado sub-húmedo con un régimen de lluvias en verano, con una precipitación pluvial de 700 a 900 mm<sup>3</sup> en promedio anual y temperatura media de 15.9°C, con heladas ocasionales.

El sur de la Cuenca de México es una zona netamente lacustre y el Parque, topográficamente hablando, se ubica en un área semi-plana correspondiente a una enorme llanura aluvial y lacustre del antiguo vaso desecado.



- 1.- ZONA DE JARDINES DIDACTICOS Y RECREATIVOS
- 2.- ZONA DE CHINAMPAS
- 3.- ZONA DE LA RESERVA DE AVES
- 4.- ZONA DE LA ISLA DE LOS MITOS
- 5.- ZONA DE HUERTALES O ZONA REUNIDABLE
- 6.- ZONA DE LAS RIBERAS DE LAGOS Y CANALES (CONTORNO DE LAS ZONAS CRISES)
- 7.- ZONAS ACUICERAS DE LAGOS Y CANALES

FIG. 1

El Parque tiene una extensión aproximada de 190 hectáreas, 50 de las cuales están ocupadas por distintos cuerpos de agua como lagos, canales y ciénagas que cuentan con varios ambientes que permiten el desarrollo de diversos tipos de flora y fauna silvestres.

Las aguas del Parque se caracterizan por ser ligeramente alcalinas debido a la presencia de carbonatos y bicarbonatos, su conductividad eléctrica (C. E.) implica un cierto grado de salinidad; así también hay presencia de sulfatos y fosfatos lo que indica contaminación por detergentes de las aguas residuales. El nitrógeno lo toman de nitritos contenidos en el agua de su hábitat. El incremento en solubilidad de aluminio, hierro y manganeso con el incremento de acidez puede causar toxicidad en la planta e interferir con la absorción de Ca, Mg y otros cationes básicos (Olvera, V. V.; et al., 1989; Castañeda, G. E., 1990; Ensastegui, J. L.; et al, 1995; Aguayo, S. M., 1995).

La colecta de cada planta se hizo manualmente y al azar, escogiendo sólo las hojas maduras y verdes. Se guardaron en bolsas de polietileno perfectamente etiquetadas. En el caso de la Azolla y la Lemna, debido a que son plantas libremente flotadoras, se necesitó una zaranda (red con la que separan la planta del agua) y la ayuda de trabajadores del Parque para su recolección. La Typha y el Schoenoplectus se cortaron con tijeras desde la parte media de la planta hacia arriba; y en el caso del Polygonum, la Nymphaea y el Hydrocotyle sólo sus hojas una a una.

Para su identificación taxonómica se llevó cada planta completa desde la raíz hasta la flor al Herbario Nacional de México, Instituto de Biología (MEXU) de la U.N.A.M. Las muestras fueron colectadas manualmente. Se conservaron entre hojas

de papel periódico las cuales se cambiaban continuamente para evitar la descomposición y pérdida del material en estudio. Las plantas flotantes como la Azolla y Lemna se conservaron en frascos de vidrio con alcohol al 80%.

Durante la colecta se llenaron las siguientes fichas para cada especie en estudio:

HERBARIO NACIONAL DE MÉXICO  
Instituto de Biología (MEXU)

FLORA ACUÁTICA Y DE ZONAS  
INUNDABLES DE MEXICO

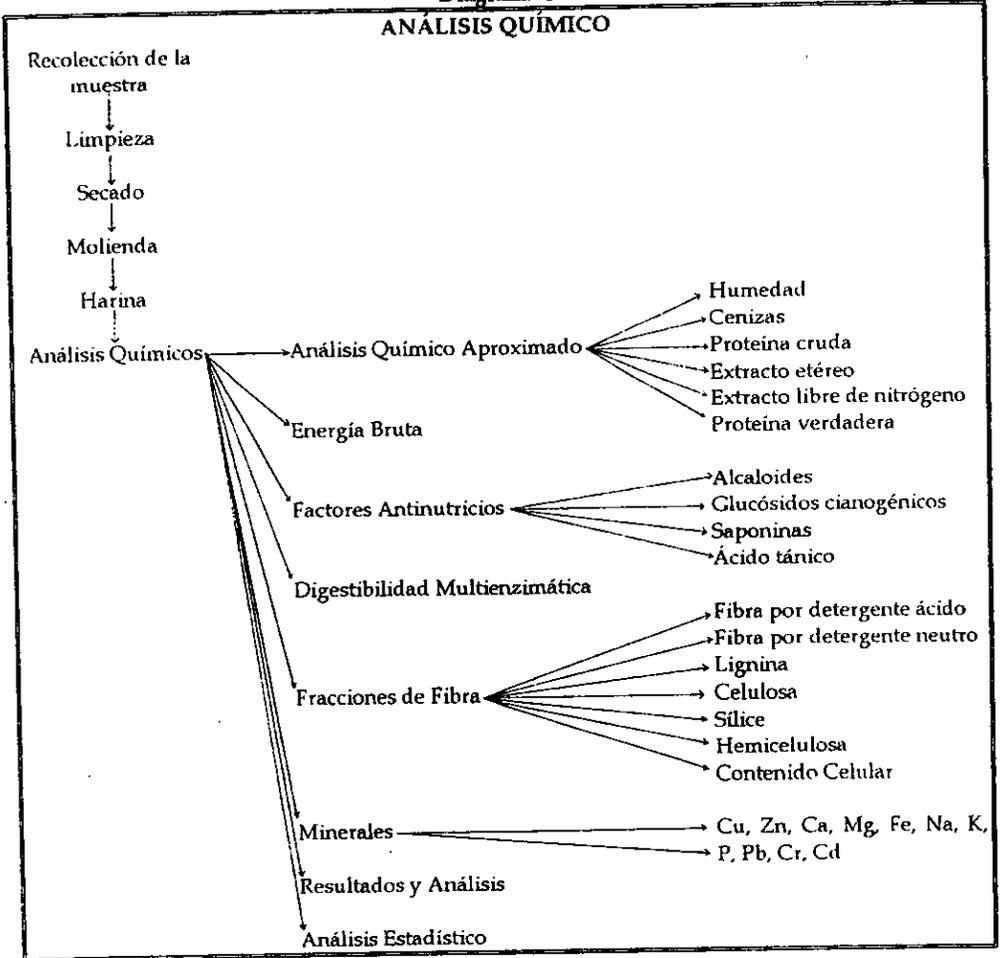
Estado.	Fam.	
Nom. Cient.		
Loc.		
Mun.	Alt.	
Hab.		
M. de Agua No.	M. de Suelo No.	Suelo
Hidrofita Enraizada:	Emergente ( )	Sumergida ( )
Tallos Postrados ( )	Hidrófita Librementemente: Flotadora ( )	Sumergida ( )
Tipo de Veg. . . . . Asoc.		
Forma Biol.	Tam.	Abund.
Flor		Fruto
Otros datos		
Nom. Loc.	Fecha	
Usos		
Col.	No.	
Det.		Dupl.

El análisis se realizó en las instalaciones del Instituto Nacional de la Nutrición "Salvador Zubirán", en los laboratorios de la Subdirección General de Nutrición Experimental y de Comunidad; Departamento de Nutrición Animal.

Las muestras se transportaron a los laboratorios del Instituto, se limpiaron manualmente para quitar todo tipo de materia ajena al estudio, se separaron las hojas, material de interés para esta investigación, se lavaron con agua corriente y se secaron en estufa de ventilación forzada Robertshaw a 60°C por 24 hrs. Una vez secas las hojas, se sometieron a un proceso de molienda en un molino de cuchillas con malla del número 20.

A la harina obtenida se le realizaron los siguientes análisis: Análisis Químico Aproximado (A.O.A.C., 1990) : humedad (Método: 930.04) tanto de la harina como de las hojas frescas a 110°C en estufa de secado. Cenizas (Método: 930.05) por calentamiento en mufla Thermolyne Type 1500 a una temperatura de 550°C. Proteína cruda (Método: 955.04) se determinó en el aparato Kjeltex Auto 1030 Analyzer y Digestion System 20, 1015 Digester Tecator y calculada como nitrógeno por Kjeldahl ( $N \times 6.25$ ). Extracto etéreo (Método: 930.09) fue medido por el técnica de extracción Goldfish con éter anhidro por 4.5 hrs. Carbohidratos totales por diferencia. Nitrógeno no proteico (Hayward, J. W., 1985). Factores antinutricios: alcaloides (Domínguez, X. A., 1979), glucósidos cianogénicos (Weebb, L. J., 1949), saponinas (Monroe, E. E., et al, 1952) y ácido tánico (A. O. A. C., 1984). El contenido de paredes celulares es fraccionada en dos grupos, fibra por detergente neutro (NDF) y fibra por detergente ácido (ADF), así como lignina, celulosa, hemicelulosa y sílice (Van Soest, P. J. and Wine R. H., 1967; Van Soest, P. J., 1963, respectivamente)(Apéndice 1). Digestibilidad multienzimática in vitro (Hsu, H. W.; et al., 1977). Energía bruta por Bomba Calorimétrica Parr (Manual I.N.N.S.Z, 1984). Los minerales (Método: 975.03) cobre, zinc, calcio, magnesio, hierro, sodio, potasio, plomo, cromo y cadmio por espectrofotometría de absorción atómica y el fósforo por colorimetría (Método: 965.17, A. O. A. C., 1990) (Diagrama I).

Diagrama I  
ANÁLISIS QUÍMICO



## 5.2.- CARACTERÍSTICAS DE LAS PLANTAS ACUÁTICAS COLECTADAS

**AZOLLA** : Acuática estricta libremente flotadora. Tiene forma de la punta de una rama. Hojas alternadas, sobrepuestas cubriendo el tallo. Contiene una cavidad por debajo en la cual habita una cianobacteria llamada *Anabaena azollae*. Se dispersa por el agua a través de ríos y canales, y por algunos animales durante el pastoreo. Se usa como fertilizante o abono verde ya que contiene nitrógeno que fija la cianobacteria. Vive naturalmente en lagos, arroyos, pantanos y otros cuerpos de agua grandes y pequeños. Se desarrolla en climas tropicales o templados de Asia, África y América. Localizada en el Valle de México a una altura de 2,500 msnm. Mide de 1-1.5 cm de diámetro. Se reproduce asexual y sexualmente. Llamada también "helecho de agua" y "chilacastle".

**HYDROCOTYLE** : Acuática estricta, subacuática, enraizada emergente. Distribuida en regiones tropicales y templadas. Planta herbácea perenne (que vive tres o más años), de tallos rastreros subterráneos. Mide de 1 a 35 cm de largo. Llamada comúnmente "Ombligo de Venus". Común en el Valle de México, se tiene registrada de Pachuca y El Chico, Tepetzotlán, Zumpango, Texcoco, Xochimilco y Tláhuac. Localizada a una altura de 2,250-2,950 msnm. En el lodo, a la orilla de arroyos y canales o flotantes en aguas poco profundas.

**LEMNA** : Acuática estricta libremente flotadora. Se encuentra solo en ambientes dulceacuícolas tranquilos o aguas estancadas o con poco movimiento, particularmente en manantiales, zanjas, lagunas, lagos, canales, pantanos, riachuelos, etc. Posee gran capacidad de multiplicación vegetativa. Se compone de pequeñas hojas en forma de almohadilla de 2.3 a 5.6 mm de largo por 1.5 a 4.5 mm de ancho, da una o varias raíces por debajo de la hoja. Es de color verde-amarillento y opaca cuando se seca. Se reproduce asexualmente por subdivisiones. Los nombres comunes por mencionar algunos son "aclasole", "amoyo", "chicastle", "chichicastle", "chilacastle", "chilicastle", "lenteja", "lentejilla", "lentejilla de agua". Ampliamente distribuida en el Valle de México a una altura entre 2,240-3,050 msnm.

**NYMPHAEA** : Acuática estricta enraizada de hojas flotantes. Láminas casi circulares, de color oscuro que miden de 20 -40 cm de largo por un poco menos de ancho. Flores blancas de 7-15 cm de diámetro, emergiendo sobre la superficie del agua. Produce un fruto globoso de 2.5-3 cm que madura bajo el agua. Distribuida en regiones tropicales y templadas. Planta ornamental comúnmente llamada "apapatla", "cabeza de negro" y "ninfa". Abundante en otra época en el Valle de México (Canales de Xochimilco, Mixquic, etc.), hoy casi extintas debido a la desecación paulatina de los depósitos de agua, así como a las labores de dragado.

**POLYGONUM** : Subacuática tolerante, enraizada emergente. Hierba anual, de 40 cm a 1 m de alto, con hojas lanceoladas de 3 a 12cm de largo por 0.5 a 2.0 cm de ancho. Planta acuática , subacuática o en lugares de suelo húmedo. Se localiza en Huehuetoca y de Tlalnalapan a Tlalmanalco, Xochimilco, Tláhuac y Tenango, a una altura de 2,250-2,600 msnm. Se le puede encontrar al sur de Estados Unidos y México. También se le da el nombre de "chilillo" o "sangrina" en el Valle de México.

**SCHOENOPLECTUS** : Acuática estricta enraizada emergente. Hierba perenne, robusta, con tallos triangulares hasta de 2 m de altura. Se reproducen sexualmente, tiene inflorescencias en forma de cono de color café o grisáceo. También llamada "tule" o "zacaltule". Se localiza de Zumpango a Tláhuac y Chalco, entre los 2,240 y 2,260 msnm de altura, a orilla de canales y lagunas. Se conoce desde Estados Unidos hasta Venezuela y Chile, en regiones templadas.

**TYPHA** : Acuática estricta enraizada emergente. Planta perenne. Mide hasta 2.5 m de altura y 0.8-1.3 cm de ancho, tiene inflorescencias de color café oscuro. También llamada "espadaña", "masa de agua" y "tule"; existe en los municipios de Atizapán, Cuautitlán, Xochimilco y Tlalnepantla a una altura de 2,250 msnm. Se desarrolla en lugares tranquilos de agua dulce de lagos, lagunas, pantanos, zanjas y canales. De amplia distribución en América, Europa, Asia y África (Olvera, V. V.; et al., 1989; Rzedowski, J. y Rzedowski, G., 1990; Cook, Ch. D. K., 1990; Seagrave, Ch., 1988).

### 5.3.- OBTENCIÓN DEL CONCENTRADO DE PROTEÍNA FOLIAR

Para obtener el Concentrado de Proteína Foliar (Diagrama II) se siguió el método descrito por Virabalin, R.; et al. (1993), quién realiza una operación de molienda y prensado que permite separar de la harina seca dos fracciones: un zumo proteico y un bagazo. Se escogió este método por ser rápido, no requiere de material y reactivos específicos y da altos rendimientos en la extracción.

La operación mecánica de molienda se llevó a cabo mezclando una porción de harina con agua pH=8.5 (1:3) por 3 min. en licuadora, se filtró a través de gasa. Las aspas de la licuadora permiten la ruptura de las células, disminuyendo así la resistencia mecánica a la salida del zumo en el prensado. En el bagazo se asume que quedan componentes fibrosos no solubles. El zumo contiene proteínas, lípidos, pigmentos y azúcares solubles.

Se centrifugó el líquido y se decantó el sobrenadante. El líquido se acidificó al punto isoeléctrico con HCl 0.1N hasta pH 4.0 o menos dependiendo de la naturaleza de las proteínas que conforman el concentrado de cada planta, y se calentó a 82°C por 5 min. Evitando exceder de esta temperatura y tiempo para evitar la desnaturalización de las proteínas. Se obtuvo así un precipitado (cuajada) y una solución (suero). El precipitado contiene la mayoría de las proteínas, lípidos y pigmentos que una vez seco constituye el concentrado proteínico foliar. Posteriormente se centrifugó el precipitado, se desechó el líquido y el concentrado se lavó con etanol al 95% . El disolvente arrastra la mayoría de los lípidos y pigmentos que se encuentran junto con el concentrado.

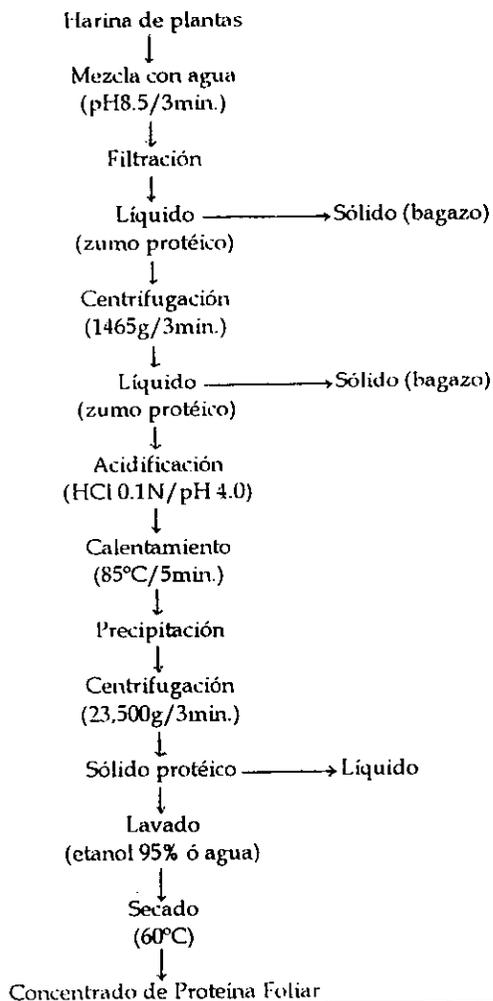
Este disolvente "sucio" se puede recuperar por destilación para ser reutilizado en otros análisis como en el caso de fracciones de fibra. Una vez que el concentrado estuvo completamente libre de pigmento se secó en estufa a 60°C por 15 min.

Este último sólido es el Concentrado de Proteína Foliar al cual se le realizó un análisis químico que consiste en determinación de nitrógeno por el método de macro-Kjeldahl de acuerdo al procedimiento del A. O. A. C. 1990. Se determinaron aminoácidos totales por hidrólisis ácida (Manual Beckman, 1987) con HCl 6N y la separación de los aminoácidos se realizó en un Analizador de Aminoácidos Beckman 63000 High Performance Analyzer. Cuantificación de triptófano por colorimetría (Torres, C. M. A., 1979).

Se llevó a cabo un análisis estadístico de media y desviación estándar.

Diagrama II

## OBTENCIÓN DEL CONCENTRADO DE PROTEÍNA FOLIAR



Fuente: Virabalin, R.; et al. (1993)

## 6.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 6.1.- CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

Una vez terminada la colecta y secado de todas las plantas, se realizó su identificación taxonómica en el Herbario Nacional de México ubicado en el Instituto de Biología (Tabla I).

Tabla I. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE LAS PLANTAS ACUÁTICAS

Nombre común	Amoyo, Aclasole, Chicastle, Lenteja, Chichicastle, Lentejilla de Agua
Nombre científico	<i>Lemna gibba</i> (L.)
Clase	Liliatae
Subclase	Arecidae
Orden	Arales
Familia	Lemnaceae

Nombre común	Ninfa, Cabeza de negro, Apatatla
Nombre científico	<i>Nymphaea mexicana</i> (Zacc.)
Clase	Magnoliatae
Subclase	Magnoliidae
Orden	Nymphaeales
Familia	Nymphaeaceae

Nombre común	Amalote, Paraguilla, Ombligo de Venus
Nombre científico	<i>Hydrocotyle ranunculoides</i> (L. F.)
Clase	Magnoliatae
Subclase	Rosidae
Orden	Umbellales
Familia	Umbelliferae (Hydrocotylaceae)

## Continuación de la Tabla I

Nombre común	Zacaltule, Tule
Nombre científico	<i>Schoenoplectus</i> sp. (Pers.) Volkart
Clase	Liliatae
Subclase	Commelinidae
Orden	Cyperales
Familia	Cyperaceae

Nombre común	Chilillo, Sangrina
Nombre científico	<i>Polygonum mexicanum</i> (Small)
Clase	Magnoliatae
Subclase	Caryophyllidae
Orden	Polygonales
Familia	Polygonaceae

Nombre común	Tule, Espadaña, Masa de Agua
Nombre científico	<i>Typha domingensis</i> (Pers.)
Clase	Liliatae
Subclase	Commelinidae
Orden	Typhales
Familia	Typhaceae

Nombre común	Helecho de Agua, Chilacastle.
Nombre científico	<i>Azolla mexicana</i> (Lumkin)
Clase	Filicopsida
Subclase	Pteridophyta
Orden	Salviniales
Familia	Azollaceae

## 6.2- ANÁLISIS QUÍMICO APROXIMADO Y ENERGÍA BRUTA

Las macrófitas acuáticas tienen alto contenido de agua, lo que repercute en su utilización y cosecha. Se encontró que la humedad para las especies Lemna y Azolla es 96.1%, mientras que para Nymphaea, Hydrocotyle, Schoenoplectus, Polygonum y Typha está alrededor de 84% y por lo tanto se obtienen rendimientos bajos de las siete plantas en cuanto a su composición química si se considera el utilizarlas sin secar previamente.

La composición química de la harina de siete plantas acuáticas se presenta en la Tabla II. Los niveles de proteína varían de un 13.78% para Schoenoplectus que es el valor más bajo hasta un 37.10% en Hydrocotyle el más alto, lo que nos indica que tienen un gran contenido proteico a diferencia del de otras especies acuáticas reportadas que van de 11.1 a 23.7% (Muztar, A. J.; et al., 1978; Boyd, C. E., 1968). Por otro lado a las harinas también se les determinó nitrógeno no proteico y la proteína verdadera resultante es prácticamente la misma que la proteína cruda.

La composición del extracto etéreo en vegetales incluye ácidos grasos, fosfolípidos, esteroides, vitaminas, hidrocarburos y pigmentos. En las harinas de las plantas acuáticas se reporta desde un 2.7% para Schoenoplectus hasta 5.4% para Typha.

Tabla II  
 COMPOSICIÓN QUÍMICA APROXIMADA, VALOR ENERGÉTICO Y DIGESTIBILIDAD  
 MULTIENTZIMÁTICA DE LA HARINA DE HOJAS DE SIETE PLANTAS ACUÁTICAS  
 (g/100g, m. s. <sup>1</sup>)\*

PLANTAS	Proteína Cruda(Nx6.25)	Proteína Verdadera	Extracto Etéreo	Cenizas	Carbohidratos Totales	Energía Bruta**	Digestibilidad Multienzimática
Lemna gibba	30.28 ± 0.02	27.24 ± 0.02	4.28 ± 0.09	17.31 ± 0.08	48.28 ± 0.35	3.04 ± 0.06	77.00 ± 0.38
Nymphaea mexicana	27.02 ± 0.12	25.20 ± 0.15	4.39 ± 0.08	9.72 ± 0.18	58.87 ± 0.20	3.37 ± 0.11	85.09 ± 0.46
Hydrocotyle ranunculoides	37.10 ± 0.15	34.84 ± 0.04	3.89 ± 0.19	11.29 ± 0.15	47.71 ± 0.46	3.83 ± 0.02	79.60 ± 0.65
Schoenoplectus sp.	13.78 ± 0.08	12.84 ± 0.05	2.70 ± 0.02	11.53 ± 0.13	71.99 ± 0.18	3.02 ± 0.02	78.81 ± 0.64
Polygonum mexicanum	22.77 ± 0.18	21.24 ± 0.19	3.59 ± 0.25	8.82 ± 0.14	64.82 ± 0.43	3.55 ± 0.15	77.12 ± 0.58
Typha domingensis	17.43 ± 0.11	15.82 ± 0.12	5.40 ± 0.12	10.19 ± 0.11	66.98 ± 0.10	3.24 ± 0.14	72.54 ± 0.18
Azolla mexicana	31.26 ± 0.26	28.37 ± 0.28	3.63 ± 0.22	16.49 ± 0.09	48.62 ± 0.40	2.94 ± 0.11	76.40 ± 0.21

<sup>1</sup> materia seca

\* Se reporta la  $\bar{x}$  y la  $\sigma$  de tres repeticiones

\*\*Kcal/g

El contenido de cenizas se encuentra en un rango de 8.82% del Polygonum hasta un 17.31% de la Lemna indicando un alto porcentaje de este componente. Se puede observar también que las plantas libremente flotadoras, Azolla y Lemna, presentan el mayor contenido de cenizas pudiéndose deber al contacto con el agua y a factores ambientales como polvo y desechos residuales de las aguas tratadas en la cual se encuentran. Estos datos no coinciden con Boyd, C. E. (1969); Muztar, A. J. (1978) y Boyd, C. E. (1968), los cuales reportan que a mayor proporción de cenizas menor cantidad de proteína. Lo resultados coinciden con Arredondo, F. (1993) quien generaliza que las plantas sumergidas tienen más ceniza que las flotantes y éstas más que las emergentes y la vegetación marginal.

Los carbohidratos totales se encontraron en cantidades relativamente altas. Aunque Boyd, C. E., (1969) reporta que muchos forrajes llegan a presentar menor cantidad de carbohidratos totales que las plantas acuáticas, mientras que Arredondo, F. (1993) reportó que las libremente flotadoras como Lemna y Azolla poseen contenidos de fibra menores que los pastos terrestres tradicionales como el Naiper y Guinea.

Los resultados de energía bruta indican que la Azolla contiene 2.94 Kcal/g mientras que el Hydrocotyle tiene 3.83 Kcal/g, datos que se encuentran por debajo de los obtenidos por Boyd, C. E., (1968) que reporta valores de 4.58 Kcal/g hasta 5.59 Kcal/g en diversas plantas acuáticas.

La digestibilidad multienzimática in vitro de todas las plantas está dentro del rango establecido, según Hsu, H. W., et al. (1977), quién reporta valores de hasta 85% en trigo y frijol, y de 76% en maíz.

### 6.3.- FRACCIONES DE FIBRA

El método de análisis de forrajes, desarrollado por Van Soest y colaboradores (1967), separa el alimento seco en dos fracciones: una de alta digestibilidad, dada por el contenido celular, y otra de baja digestibilidad, dada por las paredes celulares.

La Tabla III muestra el contenido de fracciones de fibra de la harina de las plantas. Los resultados indican que no hay variación en los niveles de F. N. D. en cuanto a cada planta, no así en F. A. D., en la cuál el *Hydrocotyle* tiene el valor más bajo con 15.59% y el *Schoenoplectus* el dato más alto con 33.68%. Esto es de esperarse debido a que la F. A. D. abarca otras fracciones como la lignina y la celulosa, de las cuales la que se encuentra en mayor proporción es la celulosa en las plantas emergentes que tienen una estructura rígida como la *Typha* con 24.43% y el *Schoenoplectus* con 23.93%. El resultado de hemicelulosa tiene variación entre cada planta, aunque se esperaría que las especies libremente flotadoras fueran semejantes pero oscilan desde un 8.17% para *Lemna* hasta un 25.23% para *Azolla*. La *Typha* y el *Schoenoplectus* son similares en su composición, mientras que la *Nymphaea*, el *Hydrocotyle* y el *Polygonum* se diferencian en sus resultados.

Tabla III  
 CONTENIDO DE FRACCIONES DE FIBRA  
 DE LA HARINA DE HOJAS DE SIETE PLANTAS ACUÁTICAS  
 (g/100g, m. s.)<sup>o</sup>

PLANTAS	F. N. D.*	F. A. D.**	Contenido Celular	Lignina	Celulosa	Hemicelulosa	Sílice
<i>Lemna gibba</i>	27.32±0.20	26.29±0.59	72.68±0.20	11.90±0.67	11.51±0.94	8.17±0.45	0.48±0.04
<i>Nympaea mexicana</i>	26.70±0.31	18.93±1.10	73.30±0.31	6.73±0.35	8.18±0.14	1.02±1.50	0.41±0.01
<i>Hydrocotyle ranunculoides</i>	26.47±0.34	15.59±1.40	73.53±0.34	10.08±0.36	5.08±0.52	4.05±1.83	0.41±0.09
<i>Schoenoplectus sp.</i>	26.71±0.17	33.68±0.27	73.29±0.17	7.28±0.67	23.93±0.50	26.71±0.38	0.21±0.05
<i>Polygonum mexicanum</i>	26.14±0.19	20.87±0.76	73.86±0.19	9.73±0.47	10.17±0.35	14.49±0.69	0.07±0.07
<i>Typha domingensis</i>	27.17±0.17	32.52±0.31	72.83±0.47	7.46±0.32	24.43±0.30	28.84±0.32	0.33±0.08
<i>Azolla mexicana</i>	27.44±0.38	29.36±0.97	72.56±0.38	17.16±0.57	8.26±0.79	25.23±1.65	0.57±0.07

<sup>o</sup>materia seca

\*Se reporta la  $\bar{x}$  y la  $\sigma$  de tres repeticiones

\*\*Fibra Neutro Detergente

\*\*\*Fibra Ácido Detergente

La cantidad de sílice encontrada es baja; este dato es un factor importante debido a que si se presenta en gran cantidad reduce la digestibilidad del alimento (Van Soest, P. J., 1963).

#### 6.4.- FACTORES ANTIFISIOLÓGICOS

La Tabla IV indica los factores antifisiológicos en la harina de cada planta. Los análisis se realizaron en forma cualitativa con excepción del ácido tánico. Se puede observar que las saponinas y los glucósidos cianogénicos no se detectaron mientras que los alcaloides están en gran proporción de acuerdo al promedio de los resultados obtenidos por los reactivos de Mayer, Warner, Dragenhorf y Sommerschein. Con respecto al ácido tánico, es importante su determinación por las propiedades astringentes que confiere al alimento, se caracteriza por sus propiedades metabólicas en el organismo y disminuye la calidad nutricional del alimento. Cuando se ingieren los taninos, éstos contienen antivitaminas K o efectos estrogénicos reduciendo la movilidad intestinal, etc.; en consecuencia, pueden actuar como efectores en la transformación o sistemas de regulación metabólica y producir inhibiciones enzimáticas específicas (Hernández, T., et al., 1991).

**Tabla IV**  
**FACTORES ANTIFISIOLÓGICOS DE LA HARINA DE HOJAS**  
**DE SIETE PLANTAS ACUÁTICAS**

PLANTAS	Alcaloides*	Ác. Tánico (g/100g, m. s.) <sup>†</sup>	Glucósidos Cianogénicos	Saponinas
<i>Lemna gibba</i>	+++	0.90±0.02	No detectados	No detectadas
<i>Nymphaea</i>	+++	3.79±0.11	"	"
<i>Hydrocotyle ranunculoides</i>	+++	1.42±0.05	"	"
<i>Schoenoplectus sp.</i>	+++	1.07±0.03	"	"
<i>Polygonum mexicanum</i>	+++	3.78±0.06	"	"
<i>Typha domingensis</i>	+++	1.17±0.01	"	"
<i>Azolla mexicana</i>	+++	2.20±0.08	"	"

\* Alcaloides: (-) No detectado; (+) Escaso; (++) Moderado; (+++) Abundante  
<sup>†</sup> materia seca

<sup>‡</sup> Se reporta la  $\bar{x}$  y la  $\sigma$  de tres repeticiones

Baduí, D. S. (1993) reporta que la mayoría de los animales no metabolizan los complejos que se forman entre las proteínas y taninos, lo que hace que se reduzca el valor nutritivo del alimento; las interacciones entre estos dos compuestos se favorecen a temperaturas altas y en ciertas condiciones de pH. La *Nymphaea* y el *Polygonum* presentan 3.8 g/100g, la *Azolla* un 2.2 g/100g, así como la *Lemna*, el *Hydrocotyle*, la *Typha* y el *Schoenoplectus* alrededor de 1 g/100g. Fafunso, M. y Byers, M. (1977) encontraron un total de 1.3 a 1.6% de polifenoles totales en pasto, mientras que Banerjee, A. y Matai, S. (1990) estimaron un contenido total de polifenoles de 2.2 a 7.2% en diferentes plantas acuáticas como *Lemna*, *Pistia* y *Azolla*. Saeed, M. y Cheryan, M. (1988) reportan hasta un 3% de polifenoles en semillas de girasol.

## 6.5.- MINERALES

El contenido de minerales se muestra en la Tabla V. Los niveles de potasio varían en cada especie de planta con un rango de 2163 mg/100g en *Nymphaea* hasta 4381 mg/100g en *Hydrocotyle* y la cantidad de magnesio va de 188 mg/100g en *Nymphaea* a 643mg/100g en *Polygonum*. Este último mineral se encuentra por debajo del reportado por Boyd, C. E. (1978) que da valores para diversas especies de 0.7 g/100 de magnesio, no así el potasio con 1-6 g/100g. La concentración de sodio, con excepción del *Hydrocotyle* que tiene la cantidad más baja de 156 mg/100g, está por encima del citado por Arredondo, F. (1993) que presenta un 0.5 g/100g. Por otro lado el calcio lo reporta de 1-3 g/100g y los datos obtenidos se asemejan a éste con cantidades de 707 mg/100g para *Schoenoplectus* a 1944 mg/100g para *Lemna*. En cuanto al hierro y zinc se encuentran en poca proporción en las plantas, 6.2 mg/100g de *Nymphaea* a 101 mg/100g de *Azolla* en hierro y 1.8 mg/100g de *Typha* hasta 18 mg/100g de *Lemna* en zinc; el cobre, plomo, cromo y cadmio no se detectaron. El fósforo esta en baja concentración de 40 mg/100g en *Schoenoplectus* a 51 mg/100g en *Lemna*, según reportes de Dewanji, A., et al., (1993b) y Muztar, A. J., et al., (1978) que encontraron cantidades de 0.1 a 0.8 g/100g de este mineral en diversas especies de macrófitas acuáticas; se esperaría mayor cantidad de fósforo debido al tipo de agua de donde provienen las plantas, ya que los canales son abastecidos con aguas tratadas y por lo tanto tienen desechos orgánicos. El nivel de potasio también se ve influido por este hecho.

Tabla V  
 CONTENIDO DE MINERALES DE LA HARINA DE HOJAS  
 DE SIETE PLANTAS ACUÁTICAS  
 (mg/100g, m. s.)<sup>o</sup>

PLANTA	K	Na	Ca	Mg	Fe	Zn	P	Cu
Lemna gibba	3103.40±26.83	896.66±34.84	1944.35±16.20	484.07±9.30	34.51±1.59	17.71±0.30	51.67±0.39	1.19±0
Nympaea mexicana	2162.54±11.20	1233.36±6.65	779.91±20.34	188.22±0.22	6.18±0.01	2.49±0.12	42.36±0.07	n. d.**
Hydrocotyle ranunculoides	4380.52±53.17	155.61±4.25	1600.86±38.45	328.49±5.31	25.24±0.41	4.70±0.06	43.25±0.11	0.11±0
Schoenoplectus sp.	2585.14±49.38	438.60±3.05	707.32±12.11	306.49±5.93	14.69±0.59	2.09±0.07	39.67±0.02	n. d.
Polygonum mexicanum	2426.45±63.12	297.99±11.01	1338.47±27.35	643.43±12.74	19.56±0.74	2.01±0.01	43.18±0.25	n. d.
Typha domingensis	3025.65±97.30	467.11±8.21	938.45±20.85	408.63±0.19	10.38±0.36	1.79±0.05	40.17±0.22	0.11±0
Azolla mexicana	2374.07±72.80	1612.24±10.4	866.97±1.22	391.19±3.26	101.21±1.43	3.60±0.01	50.91±0.08	n. d.

<sup>o</sup>materia seca

<sup>o</sup>Se reporta la  $\bar{x}$  y la  $\sigma$  de dos repeticiones

\*\*No detectado

## 6.6.- OBTENCIÓN DE LOS CONCENTRADOS DE PROTEÍNA FOLIAR

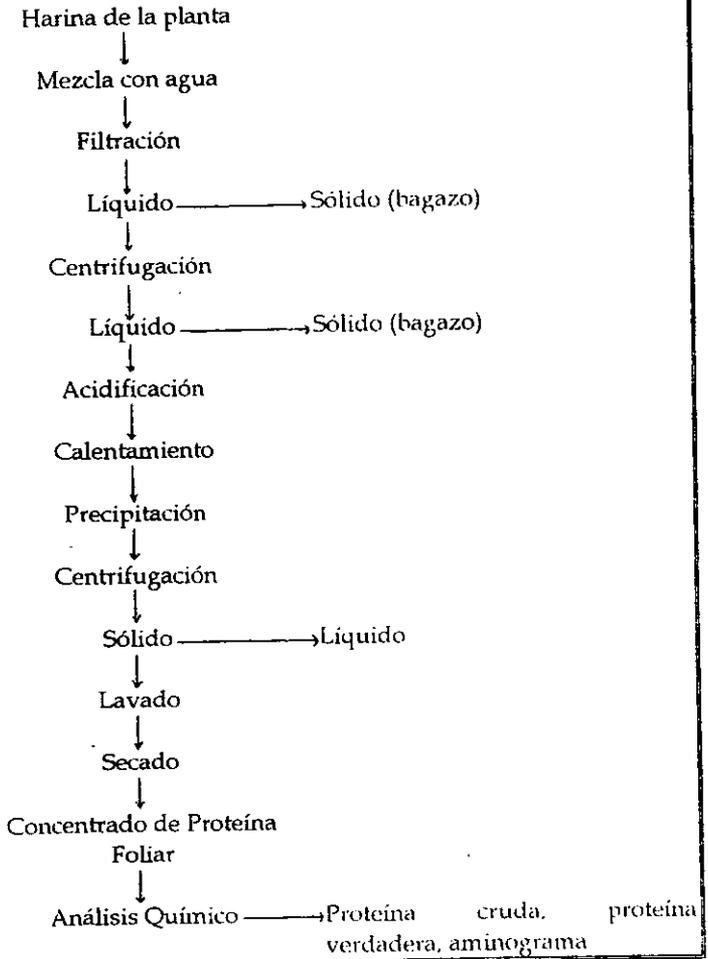
En base a la información técnica consultada y a los resultados obtenidos por Virabalin, R., et al (1993), se propuso un diagrama de bloques preliminar para la obtención de los concentrados de proteína foliar (CPF), basándose en el método de extracción alcalina, seguida de una precipitación en su punto isoeléctrico (Diagrama II).

Este proceso se probó previamente en el laboratorio con el objeto de optimizarlo y poder establecer las condiciones ideales para producir los CPF, se fijó el pH de la extracción alcalina y el pH de precipitación; pH de 8.5 y pH de 3.5-4.0 respectivamente.

El diagrama de bloques preliminar fue modificado y el proceso que se siguió para la obtención de los CPF en el laboratorio se muestra en el Diagrama III.

Diagrama III

OBTENCIÓN DEL CONCENTRADO DE PROTEÍNA FOLIAR



Como ya se mencionó en la metodología, la extracción se realizó por molienda para obtener un jugo y un bagazo (Virabalin, R.; et al., 1993). Cada planta se trató con agua destilada, en medio alcalino, para intensificar la solubilidad de la proteína e inhibir la degradación proteolítica. El pH fue de 8 variando hasta pH 8.5. El volumen de agua utilizado fue diferente para cada harina por el poder de hidratación que presentaban, así, las que requirieron mayor cantidad de agua fueron Azolla, Lemna, Schoenoplectus y Typha en una relación de 1:10, mientras que Hydrocotyle, Polygonum y Nymphaea sólo 1:5. El agua necesaria para la planta fue de 500 ml en cada extracción con la misma pesada de la harina hasta obtener  $1500 \pm 100$  ml del jugo.

Después de obtener el jugo proteico se procedió a centrifugarlo por 15 min. para separar pequeñas partículas del sobrenadante que hubieran pasado a través del filtro. Una vez separado el jugo se acidificó a pH 4 para el Hydrocotyle y la Lemna; el Schoenoplectus, la Azolla, el Polygonum, la Typha y la Nymphaea requirieron un pH de 3.5 ya que se encontró que la disminución del pH de 4 a 3.5 incrementa la cantidad del concentrado obtenido (Lu, C. D.; et al, 1981), pero decrece su valor proteico como se verá más adelante.

La precipitación varía según la naturaleza de las proteínas presentes y, dependiendo del pH del sistema, estos polímeros pueden actuar como cationes y como aniones, de tal manera que al desarrollar la misma carga eléctrica provocan fuerzas de repulsión entre ellos que repercute en un aumento de su solubilidad y estabilidad.

En el punto isoeléctrico, dichas fuerzas son mínimas, con lo cual se favorecen las interacciones proteína-proteína que inducen a la agregación, con la consecuente insolubilización final (Baduí, D. S., 1993).

Nota: no hay que confundir el punto isoeléctrico con el punto isoiónico de una proteína; éste último es el pH que desarrolla un polipéptido en forma pura, cuando no se le añade ningún electrolito a la solución en que se encuentra.

La temperatura de coagulación fue de 82°C por 5 min. para todas las plantas. Se tomó un tratamiento térmico debido a que el calor disminuye el riesgo de contaminación microbiana e inactiva algunos enzimas indeseables y a los datos obtenidos en la literatura los cuales indican que la temperatura óptima de coagulación es de 80 a 85°C (Hernández, A. y Martínez, C. 1988a).

Pasado el tiempo de calentamiento se enfrió a temperatura ambiente y se centrifugó el sobrenadante, quedando el concentrado, se filtró en crisoles Gooch y después se lavó con etanol al 95%. El lavado se realizó para obtener un concentrado libre de lípidos y pigmentos como clorofilas que se pudieran encontrar. Los lípidos de plantas es difícil separarlos debido a que están formando complejos con proteínas y carbohidratos; para destruirlos es esencial la adición o presencia de agua en el material a extraer. Una vez destruidos los complejos, el disolvente debe penetrar en el material, y ponerse en contacto con los lípidos para poder extraerlos; por ello, el disolvente, además de ser efectivo desde el punto de vista de la extracción, debe ser también miscible en agua (Hernández, A. y Martínez, C. 1988a), por tal motivo se eligió el etanol.

Cabe mencionar que la *Nymphaea* y la *Azolla* al precipitarlas a pH 4 o mayor, durante las pruebas de precipitación, y someterlas al tratamiento térmico, formaron una goma que hacía difícil su filtración. Esta goma indicó la presencia de carbohidratos unidos a las proteínas, las cuáles sólo pudieron romper su enlace en un medio más ácido por tal motivo se trataron a pH 3.5.

Para la obtención del CPF se utilizaron 100 g de harina de cada planta, obteniéndose un rendimiento de 2.32, 2.40, 2.65, 1.68, 0.89, 0.35 y 0.73% para *Lemna*, *Nymphaea*, *Hydrocotyle*, *Schoenoplectus*, *Polygonum*, *Typha* y *Azolla* respectivamente.

Los CPF presentaron diversos colores como el café oscuro de *Azolla*, el café claro de *Nymphaea* y los colores amarillo cremoso de *Polygonum*, *Lemna*, *Schoenoplectus*, *Hydrocotyle* y *Typha*. No se percibió olor alguno en ningún concentrado.

## 6.7.- PROTEÍNA CRUDA, PROTEÍNA VERDADERA Y AMINOGRAMA

**Tabla VI**  
**PROTEÍNA CRUDA Y PROTEÍNA VERDADERA DEL CONCENTRADO**  
**PROTEICO DE LA HARINA DE HOJAS DE SIETE PLANTAS ACUÁTICAS**  
**g/100g\***

PLANTAS	Proteína Total	Proteína Verdadera
<i>Lemna gibba</i>	69.90 ± 0.19	69.81 ± 0.19
<i>Nymphaea mexicana</i>	47.46 ± 0.26	47.41 ± 0.26
<i>Hydrocotyle ranunculoides</i>	66.86 ± 0.11	66.78 ± 0.11
<i>Schoenoplectus sp.</i>	48.84 ± 0.21	48.80 ± 0.21
<i>Polygonum mexicanum</i>	32.62 ± 0.01	32.53 ± 0.01
<i>Typha doningensis</i>	43.60 ± 0.18	43.56 ± 0.18
<i>Azolla mexicana</i>	47.82 ± 0.26	47.69 ± 0.26

\*Se reporta la  $\bar{x}$  y la  $\sigma$  de dos repeticiones

La Tabla VI muestra el contenido de proteína de los concentrados proteicos. Como se puede observar la *Lemna* y el *Hydrocotyle* presentan el valor proteico más elevado con 69.9 g/100g y 66.86 g/100g respectivamente mientras que el *Polygonum* tiene un valor "bajo" de 32.62 g/100g. Estos datos son similares a los reportados por Dewanji, A. (1993a) y Virabalin, R., et al. (1993) quienes, para plantas acuáticas, obtienen 50% en proteína foliar de plantas libremente flotadoras como *Lemna*, *Azolla* y *Pistia* y un 57.0% en concentrado de proteína de hojas de Lirio acuático. Con respecto al nitrógeno no proteico, que incluye compuestos como la urea, el ácido úrico, creatinina, ácido hipúrico, aminoácidos libres, amidas, ácidos nucleicos y alcaloides, no hay una cantidad significativa por lo que la proteína verdadera, se considera el total de la obtenida en el concentrado.

Estos resultados son un buen comienzo si se considera el utilizar, en condiciones asépticas, estas plantas o en su caso los concentrados como posible fuente de proteínas en alimentación animal y en alimentación humana.

Un aspecto importante es saber que cantidad de aminoácidos esenciales se localizan en ésta proteína verdadera.

En la Tabla VII se reporta el perfil de aminoácidos del concentrado proteico obtenido a partir de las hojas de las plantas acuáticas. El contenido no varía entre cada planta aún cuando unas son libremente flotadoras y otras emergentes. Todas muestran el mismo patrón en los aminoácidos, incluyendo los esenciales, con excepción del triptófano que da un rango de 0.14 g/100g proteína en *Typha* y 0.96 g/100g proteína en *Lemna*. Este último aminoácido se encuentra en muy baja cantidad, no obstante, una posible solución al problema del suministro proteico es la fortificación de proteínas vegetales con proteína animal como la obtenida a partir de sangre, huesos, piel y otros desperdicios de rastros. Los resultados obtenidos son comparables a los realizados por Dewanji, A. (1993a) en plantas acuáticas y aún con la alfalfa, no así con los reportados por Virabalin, R., et al., (1993) que da valores muy bajos para el Lirio acuático en relación con las plantas estudiadas. Las cantidades resultantes de los aminoácidos esenciales se encuentran muy por encima de los requerimientos diarios recomendados por FAO/OMS en adultos, con excepción del triptófano, del cual la *Lemna* y el *Hydrocotyle* son las que cubren las necesidades diarias del aminoácido.

Tabla VII  
 CONTENIDO DE AMINOÁCIDOS DEL CONCENTRADO PROTEICO  
 DE HOJAS DE SIETE PLANTAS ACUÁTICAS

PLANTAS	Lemna gibba	Nymphaea mexicana	Hydrocotyle ranunculoides	Schoenoplectus sp.	Polygonum mexicanum	Typha domingensis	Azolla mexicana	FAO/ OMS <sup>a</sup>
AMINOÁCIDO								
ASP	9.47	9.28	9.49	10.18	9.30	9.24	9.92	—
THR*	4.88	4.80	4.87	5.10	5.00	4.11	5.29	0.9
SER	4.63	5.14	4.30	5.33	4.12	4.07	4.70	—
GLU	11.38	11.69	11.97	12.79	10.26	11.25	11.90	—
PRO	4.30	4.35	4.17	4.81	4.27	3.39	3.93	—
GLY	5.36	4.94	5.06	5.28	4.08	4.85	5.30	—
ALA	5.99	5.46	5.36	5.83	5.03	4.92	6.45	—
VAL*	6.00	6.02	5.86	6.22	5.93	4.28	5.79	1.3
MET*	2.00	2.66	3.17	2.86	2.76	3.15	2.01	1.7
ILE*	4.36	4.44	4.12	5.29	4.24	4.16	4.31	1.3
LEU*	9.10	8.91	8.76	9.64	8.03	8.15	8.31	1.9
TYR	3.09	2.72	3.14	3.22	2.85	2.22	2.77	1.9
PHE*	8.25	6.48	7.55	7.29	5.91	5.49	5.03	1.9
HIS*	2.28	2.63	2.30	2.32	2.30	2.12	2.02	1.6
LYS*	6.01	5.76	6.24	7.09	6.69	5.26	5.62	1.6
ARG*	5.71	3.92	4.15	4.24	3.74	3.79	4.02	—
CYS	1.01	1.81	1.57	1.58	1.49	1.7	1.06	1.7
TRP*	0.96	0.37	0.69	0.20	0.26	0.14	0.30	0.5

\*aminoácidos esenciales, <sup>a</sup> patrón de referencia FAO/OMS (1985), recomendación diaria en adultos.

La Tabla VIII muestra el contenido de aminoácidos de algunas fuentes convencionales como son la soya, alfalfa, amaranto y lirio acuático. Algunas de estas fuentes alimenticias son utilizadas en forma natural como semillas o hierba y en países en vías de desarrollo como la India y medio oriente extraen el concentrado proteico de las plantas y semillas para utilizarlo como complemento alimenticio en formulaciones de bebés o bien en la alimentación directa de rumiantes.

No se puede hacer una comparación entre las diferentes fuentes convencionales de aminoácidos y los obtenidos ya que su origen es diferente y por lo tanto sus propiedades podrían no ser las mismas, pero sí se puede observar si cubren los requerimientos diarios establecidos por la FAO/OMS.

Tabla VIII  
 CONTENIDO DE AMINOÁCIDOS DE ALGUNAS FUENTES CONVENCIONALES  
 (g/100g Proteína)

AMINOÁCIDO	PASTA DE SOYA <sup>o</sup>	ALFALFA <sup>*</sup>	AMARANTO <sup>+</sup> (Conc. Proteico)	LIRIO ACUÁTICO* (Conc. Proteico)	SOYA <sup>□</sup> (completa, cocida)	FAO/OMS <sup>^</sup>
MET	1.48	2.3	2.2	1.27	0.5	1.7
CYS	1.57	—	3.5	0.42	0.6	1.7
PRO	—	4.8	4.5	2.72	—	—
GLU	—	11.1	17.2	5.90	—	—
LYS	6.66	6.7	6.0	2.69	2.4	1.6
THR	4.11	5.2	3.7	2.63	1.5	0.9
TRP	1.41	—	—	—	—	0.5
ARG	7.45	6.5	8.1	3.56	2.8	—
VAL	5.32	6.8	4.4	2.79	1.8	1.3
LEU	8.00	8.9	6.0	5.06	2.8	1.9
ILE	5.43	5.3	3.9	2.31	—	1.3
HIS	2.61	2.5	3.0	1.10	0.9	1.6
TYR	2.91	4.4	3.8	2.16	1.2	1.9
PHE	5.16	5.7	4.3	3.39	1.8	1.9
ALA	—	6.0	4.0	3.40	—	—
ASP	—	—	8.8	5.05	—	—
GLY	5.20	5.3	8.4	3.02	—	—
SER	5.57	4.3	6.7	2.56	—	—

<sup>o</sup>Nutrient Requirements of Poultry, (1984); <sup>\*</sup>Dewanji, A., (1993); <sup>+</sup>Soriano-Santos, J., (1993); <sup>\*</sup>Virabalin, R.; et al. (1993).

<sup>□</sup>Shimada, S. A., (1983). <sup>^</sup>Patrón de referencia FAO/OMS (1985), recomendación diaria en adultos.

## 7.- CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos de los análisis realizados:

- Se encontró que las plantas acuáticas pueden ser utilizadas como fuente inagotable para la preparación de concentrados de proteína foliar debido a que se reproducen rápidamente. Estas plantas tienen valores nutricionales como contenido de proteína, extracto etéreo, carbohidratos totales, y cenizas en buena cantidad . El contenido de grasas es bajo.
- La proteína foliar tiene un alto potencial debido a la cantidad altamente disponible de aminoácidos. Algunas plantas como por ejemplo lucerina, trébol y hojas de centeno han sido usadas, pero el proceso y problemas con el sabor se presentan en todas ellas. La incorporación de proteína foliar a los alimentos no ha corrido con mucha suerte principalmente en nuestro país.
- Las plantas acuáticas son buena fuente de proteína, aunque, el único inconveniente y muy importante es su alto contenido de humedad, por tal motivo es necesario realizar un secado previo a su utilización.
- Los rendimientos en la obtención de concentrados de proteína foliar son bajos, lo que indica que se necesitarán grandes cantidades de planta fresca para obtenerlos.

- El utilizar las plantas acuáticas como posible fuente potencial de alimentación humana y/o animal, ayudaría no solo a cubrir necesidades alimenticias sino también como control ecológico en su proliferación.
- Las plantas acuáticas aparentemente no tienen factores antifisiológicos en cantidad que pudieran causar alguna reacción alérgica o secundaria al organismo que la ingiere aunque se necesitaría realizar un estudio más profundo.

## 8.- SUGERENCIAS

Es necesario realizar más investigaciones en los Concentrados de Proteína Foliar, sobre como mejorar su rendimiento, así como determinar algunas propiedades funcionales que son importantes para su incorporación en la alimentación humana y/o animal, tales como absorción de agua, absorción de grasa, solubilidad y emulsificación, también evaluar características organolépticas (olor, color, sabor, textura) y contenido de vitaminas.

Es importante conocer el tiempo de vida de anaquel en los Concentrados de Proteína Foliar para saber si sus usos o aplicaciones deben ser inmediatas o si pueden ser utilizados a futuro.

- El utilizar las plantas acuáticas como posible fuente potencial de alimentación humana y/o animal, ayudaría no solo a cubrir necesidades alimenticias sino también como control ecológico en su proliferación.
- Las plantas acuáticas aparentemente no tienen factores antifisiológicos en cantidad que pudieran causar alguna reacción alérgica o secundaria al organismo que la ingiere aunque se necesitaría realizar un estudio más profundo.

## 8.- SUGERENCIAS

Es necesario realizar más investigaciones en los Concentrados de Proteína Foliar, sobre como mejorar su rendimiento, así como determinar algunas propiedades funcionales que son importantes para su incorporación en la alimentación humana y/o animal, tales como absorción de agua, absorción de grasa, solubilidad y emulsificación, también evaluar características organolépticas (olor, color, sabor, textura) y contenido de vitaminas.

Es importante conocer el tiempo de vida de anaquel en los Concentrados de Proteína Foliar para saber si sus usos o aplicaciones deben ser inmediatas o si pueden ser utilizados a futuro.

Realizar un estudio más profundo para determinar él o los tipos de alcaloides presentes en las plantas así como su cantidad, es importante para saber la disponibilidad de la planta como alimento.

Hacer un análisis comparativo más profundo de los aminoácidos presentes en los concentrados de proteína foliar y los encontrados en otras fuentes convencionales de alimento es importante para saber si se podrían sustituir o complementar con éste concentrado.

Un aspecto muy importante que se debe tener en cuenta es el lugar de donde provienen las plantas y las condiciones sanitarias de su entorno. Debido a esta situación es necesario realizar, además de las investigaciones mencionadas anteriormente, pruebas microbiológicas, tanto a las plantas como a los concentrados, con el fin de detectar si pudieran causar alguna reacción adversa al organismo.

Evaluar el costo, desde la colecta de la planta hasta la extracción de la proteína foliar, para saber si su utilización es rentable o no sería conveniente ya que se necesitaría de bastante mano de obra y maquinaria especial para obtener una cantidad suficiente de materia prima. También el evaluar el gasto de energía y la cantidad de reactivos necesarios durante el proceso de obtención del concentrado es importante pues elevaría el costo aún mas.

## 9.- BIBLIOGRAFÍA

- ◇ **A. O. A. C.:** Official Methods of Analysis. 13<sup>th</sup> Edition. Association of Official Analytical Chemists. Washington, D. C. (1984).
- ◇ **A. O. A. C.:** Official Methods of Analysis. 15<sup>th</sup> Edition. Association of Official Analytical Chemists. Washington, D. C. (1990).
- ◇ **Aguayo, S. M.:** Aspectos Microbiológicos y de Calidad del Agua de Cuatro canales de Xochimilco. Tomo II. Primer Seminario Internacional de Investigadores de Xochimilco, A. C., México, 1995.
- ◇ **Arredondo, F.:** Fertilización y Fertilizantes su Uso y su Manejo en la Acuicultura. U. A. M. pags. 48-62 (1993).
- ◇ **Arthey, D. and Dennis, C.:** Vegetable Processing. Blackie and Son Ltd. New York, 1991.
- ◇ **Baduí, D. S.:** Química de los Alimentos. Editorial Alhambra Mexicana. Tercera Edición. México D. F., 1993.
- ◇ **Banerjee, A. and Matai, S.:** Composition of Indian Aquatic Plants in Relation to Utilization as Animal Forage. J. Aquat. Plant Manage. 28, 69-73 (1990).
- ◇ **Bates, R. and Hentges, F.:** Aquatic Weed - Erradicate or Cultivate?. Econ. Bot. 30, 39-50 (1976).
- ◇ **Betschart, A. and Kinsella, J. E.:** Extractability and Solubility of Leaf Protein. J. Agr. Food Chem. 21, 60-65 (1973).
- ◇ **Bhanu, N. V.; Ramachandra, G. and Monteiro, V.:** Evaluation of Protein Isolate from *Cassia uniflora* as a Source of Plant Protein. J. Sci. Food Agric. 54, 659-662 (1991).

- Boyd, C. E.:** Fresh-water Plants: A Potential Source of Protein. *Econ. Bot.* 22, 359-368 (1968).
- ◇ **Boyd, C. E.:** The Nutritive Value of Three Species of Water Weeds. *Econ. Bot.* 23, 123-127 (1969).
- ◇ **Boyd, C. E.:** A Bibliography of Interest in the Utilization of Vascular Aquatic Plants. *Econ. Bot.* 26, 74-84 (1973).
- ◇ **Boyd C. E.:** Chemical Composition of Wetland Plants. En: Good, R. E., Whigham, D. F. y Simpson, R. L. (eds): *Freshwater Wetlands*. Academic Press, New York. 155-167 (1978).
- ◇ **Castañeda, G. E.:** El Helecho Acuático *Azolla* sp como Fuente de Proteína para Pollos de Engorda. Tesis. Universidad Autónoma de Chapingo. México, 1990.
- ◇ **Cook, Ch. D. K.:** *Aquatic Plant Book*. SPB Academic Publishing, The Hague, The Netherlands, 1990.
- ◇ **Chanda, S.; Bhaduri, S. K. and Sardar, D.:** Chemical Characterization of Pressed Fibrous Residues of Four Aquatic Weeds. *Aquatic Botany.* 42, 81-85 (1991).
- ◇ **Cheftel, J. C.; Cuq, J. L. y Lorient, D.:** *Proteínas Alimentarias*. Editorial Acribia, S. A. Zaragoza España, 1989.
- ◇ **Dahlgren, R. M. T.:** *The Families of the Monocotyledons*. Germany, Springer-Verlag, 1985.
- ◇ **Dewanji, A.:** Amino Acid Composition of Leaf Proteins Extracted from Some Aquatic Weeds. *J. Agric. Food Chem.* 41, 1232-1236 (1993a).
- ◇ **Dewanji, A.; Matai, S.; Si, L.; Barik, S. and Nag, A.:** Chemical Composition of Two Semi-Aquatic Plants for Food Use. *Plants Foods for Human Nutrition.* 44, 11-16 (1993b).

- Domínguez, X. A.:** Métodos de la Investigación Fitoquímica. Capítulo 15. Editorial Limusa. México, D. F. pp 211-227 (1979).
- ◆ **Ensastegui, L. J.; Alvizo, G. G. y Aguirre, J. L.:** La Calidad de Agua del Parque Ecológico de Xochimilco (P. E. X.), un Estudio de la Variación Estacional. Tomo I. Segundo Seminario Internacional de Investigadores de Xochimilco. Asociación Internacional de Investigadores de Xochimilco, A. C., México, 1995.
- ◆ **Ercoli, L.; Mariotti, M. and Masoni, A.:** Protein Concentrate and Ethanol Production from Jerusalem Artichoke (*Helianthus tuberosus*, L.). *Agr. Med.* 122, 340-351 (1992).
- ◆ **Fafunso, M. and Byers, M.:** Effect of Pre-press Treatments of Vegetation on the Quality of the Extracted Leaf Protein. *J. Sci. Food Agric.* 28, 375-380 (1977).
- ◆ **Fennema, R. O.:** Química de los Alimentos. Editorial Acribia, S. A. Zaragoza, España, 1993.
- ◆ **García, E.:** Modificación al Sistema de Clasificación Climática de Köppen (Para Adaptar a las Condiciones Climáticas de la República Mexicana). Instituto de Geografía. U. N. A. M., México, D.F., (1973).
- ◆ **Gopal, B. and Sharma, K. P.:** Aquatic Weed Control Versus Utilization. *Econ. Bot.* 33, 340-346 (1979).
- ◆ **Gupta, K. and Wagle, D. S.:** Nutritional and Antinutritional Factors of Green Leafy Vegetables. *J. Agric. Food Chem.* 36, 472-474 (1988).
- ◆ **Hanczakowski, P.; Szymczyk, B. and Skraba, B.:** Composition and Nutritive Value of Native and Modified Green Fraction of Leaf Protein from Lucerne (*Medicago sativa*). *J. Sci. Food Agric.* 56, 495-501 (1991).

- Hayward, J. W.:** Technical Consultant, Minneapolis, Minn. (1975): En Tejada de Hernández, I. Manual de Laboratorio para Análisis de Ingredientes Utilizados en la Alimentación Animal. P. A. I. E. P. E. M. E. (1985).
- ◆ **Hernández, A. y Martínez, C.:** Concentrados Proteínicos Foliareos. Revisión Bibliográfica. Anal. Bromatol. XL-2, 311-325 (1988a).
- ◆ **Hernández, A.; Martínez, C. and González, G.:** Effects of Freezing and pH of Alfalfa Leaf Juice upon the Recovery of Chloroplastic Protein Concentrates. J. Agric. Food Chem. 36, 139-143 (1988b).
- ◆ **Hernández, A.; Martínez, C. and Alzueta, C.:** Effects of Alfalfa Leaf Juice and Chloroplast-Free Juice pH Values and Freezing upon the Recovery of White Pritein Concentrate. J. Agric. Food Chem. 37, 28-31(1989).
- ◆ **Hernández, T.; Hernández, A. and Martínez, C.:** Polyphenols in Alfalfa Leaf Concentrates. J. Agric. Food Chem. 39, 1120-1122 (1991).
- ◆ **Hernández, T. and Hernández, A.:** Available Carbohydrates in Alfalfa Leaf Protein Concentrates. J. Agric. Food Chem. 42, 1747-1749 (1994).
- ◆ **Hernández, T.; Centeno, C.; Martínez, C. and Hernández, A.:** Effect of Solvent Extraction on the Nitrogen Compounds in Alfalfa Protein Concentrates. J. Agric. Food Chem. 43, 3065-3069 (1995a).
- ◆ **Hernández, T.; Martínez, C. and Hernández, A.:** Influence of Solvent Extraction on the Dietary Fibre Fractions of Alfalfa Protein Concentrates. J. Sci. Food Agric. 68, 187-190 (1995b).
- ◆ **Hernández, T., Martínez, C.; Hernández, A. and Urbano, G.:** Protein Quality of Alfalfa Protein Concentrates Obtained by Freezing. J. Agric. Food Chem. 45, 797-802 (1997).

- Hopson, M. S. and Zimba, P. V.:** Temporal Variation in the Biomass of Submersed Macrophytes in Lake Okeechobee, Florida. *J. Aquat. Plant Manage.* 31, 78-81 (1993).
- ◆ **Hsu, H. W.; Vavak, D. L.; Satterlee, L. D. and Miller, G. A.:** A Multienzyme Technique for Estimating Protein Digestibility. *J. Food Sci.* 42, 1269-1273 (1977).
- ◆ **Kim, N.; Kim, Y. J. and Nam, Y. J.:** Characteristics and Functional Properties of Protein Isolates from Various Peanut (*Arachis hypogaea* L.) Cultivars. *J. Food Sci.* 57, 406-410 (1992).
- ◆ **Lehninger, L. A.:** Principles of Biochemistry. Worth Publishers, Inc. New York, U. S. A., 1984.
- ◆ **Longe, D. M.:** Herbivory on Freshwater Macrophytes. *Aquatic Botany.* 41, 195-224 (1991).
- ◆ **Lu, C. D.; Jorgensen, N. A.; Straub, R. J. and Koegel, R. G.:** Quality of Alfalfa Protein Concentrate with Changes in Processing Conditions During Coagulation. *J. Dairy Sci.* 64, 1561-1570 (1981).
- ◆ **Manual Beckman.** Publishing for Spinoco Division of Beckman Instruments Inc. Palo Alto. A6300-AN-007. October, 1987.
- ◆ **Manual de Técnicas de Laboratorio para el Análisis de Alimentos.** I. N. N. S. Z. División de Nutrición Experimental y Ciencia de los Alimentos, 1984.
- ◆ **Masoni, A.; Barberi, P.; Ercoli, L. and Mariotti, M.:** Protein And Sugar Production from Jerusalem Artichoke (*Helianthus tuberosus*, L.) According to Stage of Development. *Agr. Med.* 123, 317-324 (1993).
- ◆ **Monroe, E. E., et al:** Detection and Estimation of Steroidal Sapogenins in Plant Tissue. *Anal. Chem.* 8 (24): 1337-1341 (1952).

- Muller, H. G. y Tobin, G.:** Nutrición y Ciencia de los Alimentos. Editorial Acribia, S. A. Zaragoza España, 1991.
- ◆ **Muztar, A. J.; Slinger, S. J. and Burton, J. H.:** Chemical Composition of Aquatic Macrophytes. I. Investigation of Organic Constituents and Nutritional Potential. II. Amino Acid Composition of the Protein and Non-Protein Fractions. III. Mineral Composition of Freshwater Macrophytes and their Potential for Mineral Nutrient Removal from Lake Water. *Can. J. Plant Sci.* 58, 829-862 (1978).
- ◆ **Niño, S. y Lot, A.:** Estudio Demográfico del Lirio Acuático *Eichornia crassipes* (Mart) Solms: Dinámica de Crecimiento en Dos Localidades Selectas. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* No. 45 (1983).
- ◆ **Nutrient Requirements of Poultry.** National Research Council. Eight Edition. National Academy Press. Washington, D. C., U. S. A., 1984.
- ◆ **Olvera, V. V.; Díaz, Z. G.; Romero, L. F. y Aguirre, M. J.:** Biología y Ecología del Lirio Acuático *Eichornia crassipes* (Mart.) Solms. Comisión Nacional del Agua. Control y Aprovechamiento del Lirio Acuático en México. Instituto Mexicano de Tecnología del Agua. Coordinación de Investigación. México, D. F., 1989.
- ◆ **Petr, T.:** Aquatic Weeds and Fisheries Production in Developing Regions of the World. *J. Aquatic Plant Mange.* 31, 5-13 (1993).
- ◆ **Ramos, V. L. J. y Novelo, R. A.:** Vegetación y Flora Acuáticas de la Laguna de Yuriria, Guanajuato, México. *Acta Botánica Mexicana.* 25, 61-79 (1993).
- ◆ **Román, P.:** Las Plantas Forrajeras de la Chinamperia de Xochimilco. *Boletín de Información.* Patronato del Parque Ecológico de Xochimilco (1994).
- ◆ **Rzedowski, J. y Rzedowski, G.:** Flora Fanerogámica del Valle de México. Vol. I, II y III, Primera edición. Publicación 26. Instituto de Ecología. México, 1990.

- Rzedowski, J.: Vegetación de México. Editorial Limusa, pp. 327-348 (1978).
- ◆ Saeed, M. and Cheryan, M.: Sunflower Protein Concentrates and Isolates Low in Polyphenols and Phytate. *J. Food Sci.* 53, 1127-1131 (1988).
  - ◆ Scopes, R. K.: Protein Purification. Principles and Practice. Third Edition. Springer-Verlag. USA, 1994.
  - ◆ Seagrave, Ch.: Aquatic Weed Control. Fishing News Books Ltd. England, 1988.
  - ◆ Setälä, J. and Syrjälä-Qvist, L.: Degradation of Crude Protein and Quality of Undegradable Protein in Untreated or Formaldehyde-Treated Rapeseed Meal. *Anim. Feed Sci. Technol.* 12, 19-27 (1984/85).
  - ◆ Shimada, S. A.: Fundamentos de Nutrición Animal Comparativa. Sistema de Educación Continua en Producción Animal en México, A. C., México, 1983.
  - ◆ Soriano-Santos, J.: Caracterización Parcial de un Concentrado Proteínico del Grano de Amaranto. *Ciencia*, 44, 517-525 (1993).
  - ◆ Soriano-Santos, J. y Córdoba-Salgado, M. A.: Evaluación de Diferentes Métodos de Solubilización de Nitrógeno, para la Obtención de Concentrados Proteínicos de Semillas de Amaranto. *Rev. Esp. Cienc. Tecnol. Aliment.* 35, 161-177 (1995).
  - ◆ Stryer, L.: Bioquímica. Tomo I. Cuarta Edición. Editorial Reverté, S. A. España, 1995.
  - ◆ Torres, C. M. A.: Comparación de Diferentes Métodos Químicos y Microbiológicos para la Determinación de Triptófano. Tesis. U. N. A. M. Facultad de Química, México, 1979.
  - ◆ Van Soest, P. J.: Use of Detergents in the Analysis of Fibrous Feeds. II. A Rapid Method for the Determination of Fiber and Lignin. *J. Assoc. Offic. Agric. Chem.* 46, 829-835 (1963).

- Van Soest, P. J. and Wine, R. H.:** Use of Detergents in the Analysis of Fibrous Feeds. IV. Determination of Plant Cell-Wall Constituents. *J. Assoc. Offic. Anal.Chem.* 50, 50-55 (1967).
- ◇ **Virabalin, R.; Kositsup, B. and Punnapayak, H.:** Leaf Protein Concentrate from Water Hyacinth. *J. Aquat. Plant Manage.* 31, 207-209 (1993).
- ◇ **Voet, D. and Voet, J. G.:** *Bioquímica*. Ediciones Omega, S. A., Barcelona, 1992.
- ◇ **Weebb, L. J.:** An Australian Phytochemical Survey-I. Alkaloids and Cyanogenetic Compounds in Queensland Plants. *Boletin* 241. C. S. Y. R. O. Melbourne, 1949.
- ◇ **Wychera, U.; Zoufal, R.; Christof-Dirry, P. and Janauer, G. A.:** Structure and Enviromental Factors in Macrophytes Stands. *J. Aquat. Plant Manage.* 31, 118-122 (1993).

## 10.- APÉNDICE 1. DETERMINACIÓN DE FRACCIONES DE FIBRA

### DETERMINACIÓN DE PAREDES CELULARES (FIBRA NEUTRO- DETERGENTE) Y CONTENIDO CELULAR.

#### Procedimiento:

- ◆ Pesar aproximadamente 1 g de muestra molida y colocarla en un baso Berzelius para iniciar el reflujo.
- ◆ Agregar: 100 ml de solución detergente neutro.
- ◆ Mantener en reflujo por 60 min.
- ◆ Decantar en crisol de filtro de vidrio previamente pesado. Filtrar con vacío toda la muestra lavando con agua caliente (80°C). Lavar con acetona dos veces, dejar secar.
- ◆ Secar los crisoles en estufa a 105°C durante 12 horas y pesar.

#### Cálculos:

$$\% \text{F.N.D.} = (\text{Peso del crisol} + \text{Muestra(g)} - \text{Peso del crisol(g)} \times 100) / \text{Peso de la Muestra(g)}$$

$$\% \text{ Contenido Celular} = 100 - \% \text{ F. N. D.}$$

Van Soest, P. J. and Wine, R. H., (1967).

---

## DETERMINACIÓN DE FIBRA POR EL MÉTODO ÁCIDO-DETERGENTE

### Procedimiento:

- ◆ Pesar aproximadamente 1 g de muestra molida y colocarla en un baso Berzelius para iniciar el reflujo.
- ◆ Agregar 100 ml de solución ácido-detergente.
- ◆ Mantener en reflujo por 60 min.
- ◆ Decantar en crisol de filtro de vidrio previamente pesado. Filtrar con vacío toda la muestra lavando con agua caliente (80°C). Lavar con acetona dos veces, dejar secar.
- ◆ Secar los crisoles en estufa a 105°C durante 12 horas y pesar.

### Cálculos:

$$\% \text{F.A.D.} = (\text{Peso del Crisol} + \text{Muestra(g)} - \text{Peso cel Crisol(g)} \times 100) / \text{Peso de la muestra(g)}$$

$$\% \text{Hemicelulosa} = \% \text{F. N. D.} - \% \text{F. A. D.}$$

## DETERMINACIÓN DE LIGNINA, CELULOSA Y SILICIO POR PERMANGANATO

### Procedimiento:

- ◆ Colocar los crisoles que tienen la F. A. D. en un cristizador, agregar aproximadamente una capa de 1 cm de espesor de agua.
- ◆ Agregar a los crisoles solución combinada de permanganato de potasio. Reposar por 90 min. Filtrar a vacío sin lavar.
- ◆ Colocar los crisoles en el cristizador y llenar con solución desmineralizadora. Reposar por 20 min.
- ◆ Lavar con alcohol etílico al 80% dos veces y con acetona otras dos veces.
- ◆ Secar en estufa a 105°C durante 12 horas y pesar.

### Cálculos:

$$\% \text{Lignina} = (\text{Peso crisol} + \text{Muestra}^*(\text{g}) - \text{Peso crisol tratado con KMnO}_4(\text{g}) \times 100) / \text{Peso Muestra}$$

- ◆ Incinerar la muestra a 500°C durante 3 horas, dejar enfriar y pesar.

### Cálculos:

$$\% \text{Celulosa} = (\text{Peso crisol} + \text{Muestra}^{**}(\text{g}) - \text{Peso crisol con cenizas}(\text{g}) \times 100) / \text{Peso muestra}(\text{g})$$

\* Crisol con la fibra obtenida por el método de F. A. D.

\*\*Crisol con muestra procedente de la determinación de lignina.

- ◆ Adicionar unas gotas de HBr conc. al residuo de cenizas. Reposar por 90 min.
- ◆ Lavar una vez con acetona y filtrar.
- ◆ Incinerar a 500°C por 2 horas, enfriar y pesar.

**Cálculos:**

$$\% \text{Sílice} = (\text{Peso crisol} + \text{Muestra}^{***}(\text{g}) - \text{Peso crisol con cenizas}(\text{g})) \times 100 / \text{Peso Muestra}(\text{g})$$

\*\*\*Crisol con muestra procedente de la determinación de celulosa.

Van Soest, P. J., (1963)