

Extracción de proteína foliar de maíz a los 10, 25 y 40 días de la siembra y análisis de sus aminoácidos

Verónica Alejandra Molina Navas

Honduras
Diciembre, 2005

ZAMORANO
CARRERA DE AGROINDUSTRIA

Extracción de proteína foliar de maíz a los 10, 25 y 40 días de la siembra y análisis de sus aminoácidos

Proyecto especial presentado como requisito parcial para optar
al título de Ingeniera en Agroindustria en el Grado
Académico de Licenciatura

presentado por:

Verónica Alejandra Molina Navas

Honduras
Diciembre, 2005.

La autora concede a Zamorano permiso
para reproducir y distribuir copias de este
trabajo para fines educativos. Para otras personas
físicas o jurídicas se reservan los derechos de autor.

Verónica Alejandra Molina Navas

Honduras
Diciembre, 2005.

Extracción de proteína foliar de maíz a los 10, 25 y 40 días de la siembra y análisis de sus aminoácidos

Presentado por

Verónica Alejandra Molina Navas

Aprobado:

Rodolfo Cojulún M.Sc.
Asesor Principal

Raúl Espinal, Ph.D.
Director
Carrera de Agroindustria

Francisco Bueso, Ph.D.
Asesor

George Pilz, Ph.D.
Decano Académico

Kenneth Hoadley, D.B.A.
Rector

DEDICATORIA

A nuestro amado Papito del Cielo, nuestro Jesusito bello y nuestro Espíritu Santo por no dejarme sola ni un solo instante durante toda mi vida.

A mis grandes amores, mis padres Juan y Lucy por ser mi ejemplo de vida, mi razón de existir y ser.

A mi amada Natalia Gabriela por dejarme ser su hermana mayor, su mejor amiga.

A mis grandes amigos Gabriela y Freddy por darme tanto sin esperar nunca nada a cambio.

A todo el que lea este proyecto por interesarse y tratar de mejorar este planeta que nos necesita a todos.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por la vida, el aire, el sol, la luna y la tierra entera, gracias por tanto amor.

A mis papitos por transmitirme durante toda su vida tanto de ese amor divino.

A mi hermana por ser mi mejor amiga, mi cómplice y aliada.

A mis familiares y amigos en Ecuador que a pesar de la distancia me apoyaron y nunca me dejaron sola.

A Gabriela Quishpe y Freddy Llive por ser mis mejores amigos, mi soporte, y mi apoyo para tener ganas de ser mejor cada día.

A los nuevos amigos en College Station por brindarme amistad verdadera y sincera.

Al Ing. Rodolfo Cojulún y al Dr. Temur Yunusov por ayudarme a adquirir la experiencia necesaria para la consecución de este proyecto.

A mis amigos y colegas en Zamorano por compartir conmigo estos cuatro años los buenos y malos momentos, siempre aprendiendo a ser mejores seres humanos.

A mis maestros y coordinadores que supieron darme ejemplo y enseñanzas importantes.

A mis amigos, los paisanos Efraín, Colindres, Nilo, Nelson, Armando, Chicho, etc, que siempre supieron darme una mano en el trabajo, y enseñarme a dar lo mejor de mí.

A los integrantes del equipo de trabajo de la Planta de Procesamiento Hortofrutícola, por dejarme compartir con ellos y aprender más cada día.

Al grupo católico PROMESAS por darme albergue y ser un verdadero oasis en el desierto espiritual de Zamorano.

AGRADECIMIENTO A PATROCINADORES

A mis padres, por dejarme hacer realidad mis sueños siempre.

A Zamorano y PRONACA S.A., por el apoyo financiero que hicieron posible mi educación en esta institución.

Al Gobierno del Ecuador por apoyar la educación superior que como a mí, beneficiaron a muchos jóvenes y espero en un futuro, siga ayudando a muchos más.

RESUMEN

Molina, Verónica. 2005. Extracción de proteína foliar del maíz a los 10, 25 y 40 días de la siembra y análisis de sus aminoácidos. Proyecto de Graduación del Programa de Ingeniería Agroindustrial. Valle del Yeguaré, Honduras. 34p.

El cultivo de maíz es el número uno en Latinoamérica. El grano es aprovechado por el humano; el resto de la planta es destinado al consumo animal o es incorporado al suelo. En este estudio se determinó el porcentaje de proteína cruda (%N X 6.25) extraíble y el contenido de aminoácidos en las hojas de maíz a diferentes edades de crecimiento, para compararlo con otros estándares de consumo humano. Se usó un diseño experimental completamente al azar (DCA) con tres edades de las plantas de maíz (10, 25 y 40 días de siembra). Se usó un solo método de extracción de proteína foliar con cinco repeticiones por cada edad. Se realizó un perfil de aminoácidos a los extractos de proteína cruda por edad. Se determinó el Índice de Solubilidad de Nitrógeno para hallar el punto iso-eléctrico de la proteína foliar de maíz. La extracción de la proteína se realizó llegando al punto iso-eléctrico pH = 4.00, se precipitó la proteína foliar después de bajar la acidez, se centrifugó, decantó y liofilizó. Se utilizó el programa estadístico SAS®, donde se efectuó un análisis de varianza con un nivel de significancia del 95% ($P < 0.05$), y una separación de medias ajustadas. El rendimiento de extracción de proteína aumentó significativamente conforme la planta continuó creciendo, siendo en promedio 1.34% de extracto final para las tres edades. El contenido de proteína cruda, base seca, para los extractos fue 14.32% a los 10 días, 10.65% a los 25 días y 6.76% a los 40 días. Mientras más joven el follaje del maíz, mayor calidad por la cantidad de aminoácidos esenciales presentes, los cuales satisfacen los requerimientos de la FAO para todas las edades en la dieta humana y son comparables con los del grano de soya y maíz, excepto por los aminoácidos azufrados.

Palabras clave: Desnaturalización proteica, digestibilidad, producto proteínico vegetal (PPV).

Rodolfo Cojulún, M.Sc.

CONTENIDO

Portadilla.....	i
Autoría.....	ii
Página de Firmas.....	iii
Dedicatoria.....	iv
Agradecimientos.....	v
Agradecimientos a patrocinadores.....	vi
Resumen.....	vii
Contenido.....	viii
Índice de Cuadros.....	xi
Índice de Figuras.....	xii
Índice de Anexos.....	xiii
 1. INTRODUCCIÓN	 1
1.1 GENERALIDADES.....	1
1.2 DEFINICIÓN DEL PROBLEMA.....	1
1.3 ANTECEDENTES.....	2
1.4 JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO.....	2
1.5 LIMITANTES DEL ESTUDIO.....	2
1.6 LÍMITES DEL ESTUDIO.....	2
1.7 OBJETIVOS.....	3
1.7.1 General.....	3
1.7.2 Específicos.....	3
1.7.3 Hipótesis.....	3
 2. REVISIÓN DE LITERATURA	 4
2.1 ORIGEN E IMPORTANCIA DE LA EXTRACCIÓN DE PROTEÍNA FOLIAR.....	4
2.2 DEFINICIÓN DE PRODUCTO PROTEÍNICO VEGETAL (PPV).....	4
2.3 CULTIVO DE MAÍZ (<i>Zea mays</i> Var. HB - 104).....	5
2.3.1 Estados críticos en el desarrollo de la planta.....	5
2.3.2 Maíz <i>Bacillus thuringiensis</i>	6
2.4 PROTEÍNAS.....	6
2.4.1 Función y componentes de las proteínas.....	6
2.4.2 Tipos de proteínas.....	7
2.4.2.1 Proteínas fibrosas.....	7
2.4.2.2 Proteínas globulares.....	7
2.4.2.3 Proteínas simples.....	7
2.4.2.4 Albúminas y globulinas.....	7
2.4.2.5 Glutelinas y prolaminas.....	7
2.4.2.6 Proteínas conjugadas.....	7
2.4.2.7 Proteínas derivadas.....	8

2.5	DESNATURALIZACIÓN DE PROTEÍNAS.....	8
2.5.1	Desnaturalización física.....	8
2.5.2	Desnaturalización química.....	8
2.6	EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DE LAS PROTEÍNAS.....	8
2.7	COMPARACIÓN DEL PERFIL DE AMINOÁCIDOS DEL FOLLAJE DE ALGUNAS PLANTAS TROPICALES.....	9
2.8	ÍNDICE DE SOLUBILIDAD DEL NITRÓGENO	9
2.9	LIOFILIZACIÓN.....	9
3.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	10
3.1	UBICACIÓN.....	10
3.2	MATERIALES Y EQUIPO.....	10
3.2.1	Materiales.....	10
3.2.2	Maquinaria y equipo utilizado.....	10
3.3	DISEÑO EXPERIMENTAL.....	11
3.4	METODOLOGÍA.....	11
3.4.1	Análisis de proteína cruda en algunos tejidos de la planta de maíz.....	11
3.4.2	Determinación del índice de solubilidad del nitrógeno.....	11
3.4.3	Extracción de proteína de las hojas del maíz (<i>Zea mays</i> var. HB-104).....	12
3.4.3.1	Cosecha de las hojas del maíz (<i>Zea mays</i> var. HB-104).....	13
3.4.3.2	Lavado y secado.....	13
3.4.3.3	Pesado, picado y mezcla.....	13
3.4.3.4	Alcalinización y colado.....	13
3.4.3.5	Centrifugación y acidificación.....	13
3.4.3.6	Precipitación, eliminación de agua y liofilización.....	14
3.4.4	Diagrama de flujo del proceso de extracción de proteína foliar.....	15
3.5	MEDICIONES DURANTE EL PROCESO DE EXTRACCIÓN.....	16
3.5.1	Acidez.....	16
3.5.2	Rendimiento.....	16
3.6	CARACTERIZACIÓN QUÍMICA.....	16
3.6.1	Proteína cruda.....	16
3.6.2	Aminoácidos en el extracto proteico.....	16
3.7	ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	16
4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	17
4.1	ESTUDIOS PRELIMINARES.....	17
4.2	DETERMINACIÓN DEL NSI.....	17
4.3	RENDIMIENTO.....	18
4.4	ANÁLISIS DE PROTEÍNA CRUDA.....	18
4.5	PERFIL DE AMINOÁCIDOS.....	21
5.	CONCLUSIONES.....	22
6.	RECOMENDACIONES.....	23
6.1	A CORTO PLAZO.....	23
6.2	A MEDIANO PLAZO.....	23

7.	BIBLIOGRAFÍA.....	24
8.	ANEXOS.....	26

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro

1.	Contenido de proteína cruda en hojas, tallo y hojas del fruto de la planta de maíz a los 40 días de siembra (en base húmeda).....	17
2.	Índice de Solubilidad del Nitrógeno (NSI) y Punto Iso-eléctrico de las hojas de maíz a los 10 días de crecimiento.....	17
3.	Resultados del ANDEVA para el rendimiento del extracto proteico foliar liofilizado (peso en gramos).....	18
4.	Resultados de la separación de medias para el rendimiento del extracto proteico foliar de la planta del maíz.....	18
5.	Resultados ANDEVA en el porcentaje de proteína cruda (micro-Kjeldahl %N X 6.25) en el extracto por edad de las hojas del maíz (en base seca).....	19
6.	Resultados de la separación de medias de la proteína cruda (%N X 6.25) del extracto proteico foliar del maíz.....	19
7.	Perfil de aminoácidos en el extracto proteico de las hojas de maíz a diferentes edades de crecimiento y comparación con otros perfiles.....	21

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura

1.	Diagrama de flujo de la extracción de proteína foliar.....	15
----	--	----

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo

1.	Plantas tropicales seleccionadas para la producción de concentrados de proteínas foliares.....	27
2.	Composición química de 96 muestras de residuos (hojas y tallo) de maíz después de la cosecha.....	28
3.	Análisis proximal de algunos subproductos agrícolas (% base seca).....	29
4.	Estructura química de aminoácidos.....	30
5.	Tipos de aminoácidos.....	31
6.	Aminoácidos esenciales.....	32
7.	Composición de aminoácidos esenciales en concentrados de proteína foliar de especies tropicales.....	33
8.	Comparación del perfil de aminoácidos esenciales del huevo (como proteína estándar) con <i>Amaranthus hybridus</i> , alfalfa y comfrey ruso.....	34

1. INTRODUCCIÓN

1.1 GENERALIDADES

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2004) la palabra proteína proviene de una palabra griega que significa "el primero", "de primera importancia". Son moléculas muy abundantes en los organismos vivos, constituyendo aproximadamente el 50% del peso seco de las células.

Según el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA por sus siglas en inglés, 2001) la malnutrición proteica y calórica es un hecho comúnmente generalizado en los países en vías de desarrollo y los menos desarrollados. La deficiencia de proteínas es un problema grave en el mundo. Los productos de proteína animal, comúnmente, resultan demasiado caros para satisfacer las necesidades proteínicas de todas las personas. El concentrado de proteína foliar (CPF) debe considerarse seriamente como una fuente adicional de proteína para consumo humano.

Muller & Riel (1996) indican que las necesidades mundiales de proteína podrían aliviarse fácilmente si los consumidores aprendieran a utilizar más proteínas vegetales en su dieta. Las proteínas abundan en el reino vegetal y se han desarrollado buenos métodos para extraerlas con el fin de utilizarlas como alimentos o en la preparación de los mismos. Según la USDA (2001), el concentrado de proteína foliar de alfalfa es preparado a gran escala comercial en Europa y en los Estados Unidos. Sin embargo, en los trópicos húmedos esta planta no se desarrolla eficientemente como en los lugares indicados, por lo que se hace necesario buscar un reemplazo para la extracción de proteína foliar. En América Latina y El Caribe existe una gran variedad de cultivos proteínicos como oleaginosas, legumbres y otros, por lo que, el desarrollo de una industria de proteínas vegetales sería conveniente para el consumo interno y para la exportación" (Muller & Riel. 1996).

"El maíz es una de las más valiosas aportaciones de las culturas mesoamericanas por ser un alimento consumido por todo el mundo para la dieta humana y animal. En Honduras, el maíz es el principal cereal de la dieta diaria y ocupa la mayor superficie de área sembrada". (De León 2001).

1.2 DEFINICIÓN DEL PROBLEMA

Inicialmente, se consideró que la elaboración de "jilotes encurtidos" en la Planta de Procesamiento Hortofrutícola (PPH) de la Escuela Agrícola Panamericana (EAP) dejaba cerca del 85% de remanentes, tales como: hojas, hojas de la mazorca, tallos y más residuos

que no reciben valor agregado. Por ello, era necesario encontrar un uso aprovechable a dichos remanentes. Sin embargo, de esta problemática surge la idea central de este proyecto, la cual es identificar la edad del cultivo de maíz que oferte mayor cantidad y calidad de proteína cruda con la metodología de extracción de proteína aprendida en la Universidad de Texas A & M.

1.3 ANTECEDENTES

En Zamorano, no se han realizado estudios sobre la utilización de las hojas de la planta del maíz para la extracción de proteína como alimento humano. Únicamente, los residuos de la planta del maíz, se han utilizado como ensilaje para alimento vacuno.

1.4 JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

La extracción de proteína foliar del maíz (*Zea mays* var. HB-104) se justifica para descubrir si el maíz es una planta apta para la implementación de una industria de proteínas vegetales en Centroamérica. Para la Planta Hortofrutícola de Zamorano, la oportunidad de ofertar nuevos productos a sus clientes, con la innovación de utilizar nuevas fuentes o recursos disponibles.

1.5 LIMITANTES DEL ESTUDIO

- No contar con fondos suficientes para realizar réplicas del análisis de perfil de aminoácidos del extracto foliar proteico del maíz por edad (10, 25 y 40 días de la siembra).
- La centrifugadora y máquina para liofilización no tenían la capacidad requerida para realizar la extracción en un tiempo eficiente.
- El tiempo disponible para este estudio no permitió realizar un estudio de mercado y factibilidad económica para determinar posibles nuevos productos a elaborar como el extracto de proteína foliar comercial.

1.6 LIMITES DEL ESTUDIO

En este estudio, únicamente se realizó el análisis de la clase y cantidad de aminoácidos presentes en el extracto foliar.

1.7 OBJETIVOS

1.7.1 General

Evaluar el rendimiento de extracción proteica y la calidad del perfil de aminoácidos del extracto proteico de la hoja del maíz en diferentes etapas del crecimiento del cultivo.

1.7.2 Específicos

- Determinar el rendimiento del extracto proteico foliar del maíz en tres etapas de crecimiento (10, 25 y 40 días después de la siembra). Determinar si hay diferencia significativa entre las tres etapas.
- Determinar el porcentaje de proteína cruda (% N X 6.25) del extracto proteico foliar del maíz en tres etapas de crecimiento (10, 25 y 40 días después de la siembra).
- Evaluar el efecto de la edad del follaje sobre la calidad del perfil de aminoácidos completo del extracto proteico.

1.7.3 Hipótesis

- **Nula:** El rendimiento del extracto proteico y el porcentaje de proteína cruda del follaje del maíz es igual en todas las etapas de crecimiento del cultivo.
- **Alternativa:** El rendimiento del extracto proteico y el porcentaje de proteína cruda del follaje del maíz difiere según la etapa de crecimiento del cultivo.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 ORIGEN E IMPORTANCIA DE LA EXTRACCIÓN DE PROTEÍNA FOLIAR

Knight (1976) afirma que el potencial de las hojas como un recurso más para la alimentación humana fue publicado desde el siglo VIII, pero el tema cobra verdadera importancia en el siglo XX. Según Knight (1976), el investigador bioquímico y nutricionista Norman Wingate Pirie (1907-1997), fue el primero en desarrollar una tecnología práctica para la extracción de la proteína foliar. Este investigador argumentó que en los diferentes climas del mundo, sería posible obtener mayor cantidad de proteína comestible de los cultivos de hojas que de ningún otro cultivo. Pirie creía firmemente, que la extracción de proteína foliar era una valiosa e importante contribución a los países más pobres y mal alimentados como la India, Jamaica y otros países del mundo.

De acuerdo con la USDA (2001), en los próximos 30 a 40 años la población mundial se incrementará al doble. En los países subdesarrollados del trópico esta carga será mayor, pues la actual tasa de crecimiento es 2.3% por año. La demanda de alimentos de origen vegetal continuará creciendo, y la oferta de carne disminuirá porque los rendimientos de granos básicos en los trópicos, generalmente son bajos y la producción local es consumida por los mismos humanos. Como una fuente adicional de proteínas, el concentrado de proteína foliar debe ser considerado seriamente, pues el recurso más abundante en los trópicos, precisamente, lo constituyen materiales foliares y muchas de estas hojas tienen un alto contenido de proteína (Anexo 1). Con el conveniente material vegetal, el rendimiento por hectárea por año de proteínas foliares puede ser al menos, cuatro veces más alto que proteínas de granos y semillas.

Knight (1976), solicita que para determinar la facilidad y rentabilidad de extracción de proteína vegetal se debe explorar el potencial productivo de la caña y hojas del maíz, que actualmente es subutilizada para alimentar el ganado o para transformarla en abono, después de la quema”.

2.2 DEFINICIÓN DE PRODUCTO PROTEÍNIC VEGETAL

Según el Codex Alimentarius (2004), los productos proteínicos vegetales (PPV) son aquellos que se obtienen mediante la reducción o eliminación de algunos de los principales constituyentes no proteínicos (agua, aceite, almidón, otros carbohidratos) obteniendo un contenido en proteínas (%N x 6.25) del 40%, o más. El contenido de proteínas se calcula sobre la base del peso en seco, con exclusión de vitaminas, minerales, aminoácidos y aditivos alimentarios que se añadan.

2.3 CULTIVO DE MAÍZ (*Zea mays*. Var. HB-104)

De acuerdo con la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO, por sus siglas en inglés, 2005) el maíz (*Zea mays*) es un alimento muy importante en toda América y gran parte de África. Se cultivó por primera vez en el continente americano mucho antes de la llegada de los colonizadores. Las semillas fueron llevadas a Europa y más tarde a África, donde el maíz es ahora la principal fuente de la dieta en muchas áreas. El maíz es popular debido a que tiene un alto rendimiento por unidad de superficie, crece en áreas cálidas y moderadamente secas, madura rápidamente y tiene resistencia natural al daño causado por las aves. Estados Unidos es el más grande productor de maíz, pero gran parte de su cosecha se utiliza para alimentar animales domésticos.

“*Zea mays* es una planta herbácea monoica de día corto que pertenece a la familia de las gramíneas. Es una planta anual con un gran desarrollo vegetativo, que puede alcanzar hasta los 5 m de altura, tener entre 15 y 30 hojas alargadas y abrazadoras, de borde áspero, ciliado y algo ondulado. El fruto (grano) es una carióspside, cuya única semilla está adherida al pericarpio (6% del peso del grano) y consta del endospermo (80%) y el embrión, germen y/o semilla (11%)”. (Monterola. *et al.* 1999).

De acuerdo con la FAO (2005), los residuos de la planta de maíz se han usado como forraje, en edad madura sirven como base para extraer diversos productos químicos de las panojas, así el furfural y xilosa (Anexo 2). Estos residuos también tienen importancia como elementos para mejorar los suelos. Según (Rangkuti, 2000) es posible obtener 6.2 toneladas de materia seca de las hojas de maíz, y brinda una mayor cantidad de nutrientes digestibles totales por hectárea (Anexo 3).

2.3.1 Estados críticos en el desarrollo de la planta

Según Monterola *et al.* (1999), el maíz es especialmente sensible a las variaciones originadas en el medio en que vive. Durante la germinación de la semilla, influyen el contacto con la humedad del suelo, la falta de condiciones (humedad y temperatura) y el buen estado de las partículas del suelo (agregación y finura) que hacen que los tejidos ricos en sustancias de reserva queden expuestos a organismos del suelo (parásitos, patógenos, etc). La falta de fósforo afecta el crecimiento de la planta durante las primeras semanas.

“El período crítico más importante para la vida de la planta transcurre en las tres semanas anteriores al momento de la floración que requieren minerales en estado asimilable en el suelo, con un aporte suficiente de agua. El nitrógeno es el elemento más necesitado en esta edad de la planta” (Monterola. *et al.* 1999).

2.3.2 Maíz *Bacillus thuringiensis*

“Un organismo genéticamente modificado es aquel cuyos genes han sido alterados artificialmente” (Ribeiro, 2004). Bt es la abreviatura de *Bacillus thuringiensis*, una bacteria que se encuentra de manera natural en el suelo y es utilizada por los agricultores para controlar ciertos insectos plaga, debido a la toxina que produce cuando es ingerida. (Ribeiro, 2004).

“La Agencia Ambiental Norteamericana (EPA, por sus siglas en inglés) ha medido el impacto de cultivos Bt sobre la salud humana con experimentos realizados a animales de laboratorio. Según Ribeiro (2004), el potencial alergénico del maíz Bt es sospechoso de ser la causa de incrementos de alergias inexplicables, por lo que se recomienda supervisar el uso de semillas libres de Bt, etc.

2.4 PROTEÍNAS

“Las proteínas se consideran como los compuestos orgánicos más importantes, pues son las sustancias de la vida. Éstas son macromoléculas compuestas por carbono, hidrógeno, oxígeno y nitrógeno (Anexo 4). La mayoría contiene azufre y fósforo. Las mismas están formadas por la unión de varios aminoácidos, unidos mediante enlaces peptídicos. El orden y disposición de los aminoácidos en una proteína depende del código genético, ADN, de la persona. Las proteínas son necesarias para la formación y renovación de los tejidos”. (Maid 1999).

Según Tokar (2003), la razón fundamental de utilizar plantas en la fabricación de proteínas es que las proteínas componen al menos el 50% del peso seco de las células vivas y son fundamentales en aspectos de estructura y función celular, desde proveer integridad estructural hasta la regulación de reacciones bioquímicas, incluyendo los procesos fundamentales de la expresión de los genes.

2.4.1 Función y componentes de las proteínas

De acuerdo con Mahan. *et al.* (1996), las proteínas son esenciales para la formación y mantenimiento de los tejidos corporales, por ejemplo juegan un papel fundamental en el músculo, hormonas, enzimas, varios fluidos y secreciones corporales, y como anticuerpos en el sistema inmunitario. Las proteínas también son esenciales para el transporte de lípidos, vitaminas liposolubles y minerales, y contribuye en la homeostasis manteniendo el balance entre los fluidos corporales. “Entre las principales propiedades funcionales de las proteínas en los alimentos están, la hidratación, solubilidad, viscosidad, gelificación, textura, formación de masa, emulsificación, formación de espuma, captación de aromas, interacción con otros componentes de los alimentos”. (FAO, 2005).

Los aminoácidos son los elementos estructurales de las proteínas. Las proteínas de plantas y animales están formadas por veinte α -aminoácidos en configuración L y se diferencian por sus cadenas laterales (Anexo 5). “Un aminoácido es una molécula que contiene un grupo

carboxilo (-COOH) y un grupo amino (NH₂-) libres. Pueden expresarse en general por NH₂-CHR-COOH, siendo R un radical característico para cada ácido”. (Wikimedia 2005).

De acuerdo con el Glosario de Aminoácidos (2005), el ser humano necesita un total de veinte aminoácidos, de los cuales, nueve no es capaz de sintetizar por sí mismo y deben ser aportados por la dieta. Estos nueve son los denominados **aminoácidos esenciales** (Anexo 6). Los aminoácidos en las proteínas alimentarias pueden clasificarse como **esenciales** si la síntesis corporal no es suficiente para cubrir las necesidades; **no esenciales** si pueden ser sintetizados por el organismo y **condicionalmente esenciales** solo son esenciales bajo ciertas condiciones. (Rehner. et al. 1999).

“Usualmente, los que se encuentran limitados en la dieta vegetal humana son el triptófano, la lisina y la metionina. Las características de la cadena lateral (R) influyen en las propiedades fisiológicas y físico-químicas de los aminoácidos y por lo tanto también de las proteínas” (Glosario de Aminoácidos, 2005).

2.4.2 Tipos de proteínas

2.4.2.1 Proteínas fibrosas. Se encuentran en tejidos y elementos estructurales como músculos, huesos, piel, orgánulos celulares y membranas celulares. Su función es estructural principalmente, están formadas por una estructura secundaria simple y repetitiva (estructura α -hélice y β -lámina). Por ejemplo: queratina, colágeno (α -hélice), fibra de seda (estructura β -lámina). Llamadas también albuminoides. (Rehner. *et al.* 1999).

2.4.2.2 Proteínas globulares. Son proteínas biológicamente activas que tienen una estructura terciaria compleja, generalmente, con varios tipos de interacciones secundarias en la propia cadena polipeptídica. (Rehner. *et al.* 1999).

2.4.2.3 Proteínas simples. Producen solo aminoácidos al ser hidrolizados.

2.4.2.4 Albúminas y globulinas. Son solubles en agua y soluciones salinas diluidas (ejemplo: lactoalbumina de la leche).

2.4.2.5 Glutelinas y prolaminas. Son solubles en ácidos y álcalis, se encuentran en cereales fundamentalmente el trigo. El gluten se forma a partir de una mezcla de gluteninas y gliadinas con agua.

2.4.2.6 Proteínas conjugadas. Son las que contienen partes no proteicas. Ejemplo: nucleoproteínas, lipoproteínas, fosfoproteínas, gluconoproteínas, metaloproteínas, etc.

2.4.2.7 Proteínas derivadas. Son producto de la hidrólisis.

2.5 DESNATURALIZACIÓN DE LAS PROTEÍNAS

“La desnaturalización consiste en el desplegamiento de la estructura nativa plegada característica de la cadena polipeptídica de las moléculas de las proteínas globulares. La estructura de las proteínas es muy sensible a los efectos físico-químicos. Varios procesos pueden inducir la desnaturalización, provocando cambios en la estructura secundaria, terciaria y cuaternaria”. (Lehninger 2002).

Según Rehner. *et al.* (1999) los efectos de la desnaturalización de proteínas se perciben con cambios en la solubilidad por exposición de las unidades peptídicas hidrofílicas o hidrofóbicas, cambios en la capacidad de absorción de agua, con la pérdida de actividad biológica, existe un mayor riesgo de ataque químico por exposición de otros enlaces peptídicos, los cambios en la viscosidad de las soluciones, y la posible disminución de la capacidad de cristalización.

2.5.1 Desnaturalización física

Los tratamientos físicos son calentamiento, enfriamiento, efectos mecánicos, presión hidrostática o radiación. (Rehner. *et al.* 1999).

2.5.2 Desnaturalización química

Los principales responsables son los ácidos y bases, metales y altas concentraciones de sal, y disolventes orgánicos. (Rehner. *et al.* 1999).

2.6 EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DE LAS PROTEÍNAS

Según la FAO (2005) existen tres métodos posibles para la medición de calidad proteica, así se tiene:

- Contenido en aminoácidos de la proteína alimentaria.
- Digestibilidad.
- Requerimientos de aminoácidos basados en un patrón estándar de requerimientos de aminoácidos para un grupo de edad determinado, y en los requerimientos para preescolares de 2- 5 años usados como estándar para toda la población a partir de un año de edad.

Según Lehninger (2002) la calidad de las proteínas alimentarias depende de su digestibilidad y de su capacidad para proveer todos los aminoácidos esenciales necesarios para cubrir los requerimientos humanos.

Ejemplos de metodologías **biológicas** tradicionales incluyen: el Valor biológico (BV), la utilización de las proteínas neta (NPU) y el coeficiente de eficacia biológica (PER). Una nueva metodología eficaz es la Puntuación de los aminoácidos de las proteínas corregida según su digestibilidad (PDCAAS) (Cheftel *et al.* 1996).

2.7 COMPARACIÓN DEL PERFIL DE AMINOÁCIDOS DEL FOLLAJE DE ALGUNAS PLANTAS TROPICALES

De acuerdo con la USDA (2005), tras la evaluación del concentrado de proteína foliar de varios forrajes de leguminosas tropicales se encontró que poseen contenidos de aminoácidos similares a los de la alfalfa y la soya. (Anexo 7).

“La presencia de fenoles afecta el valor nutricional de las proteínas obtenidas de hojas de árboles o plantas. Los forrajes tropicales representan una gran familia de más de 10,000 especies. Éstos tienen una alta capacidad fotosintética, una alta producción anual y la capacidad de recrecer luego de las cosechas. Sin embargo, el contenido de nitrógeno natural es bajo y se requiere una fuerte fertilización con nitrógeno”. (USDA, 2005).

La USDA (2005) señala que el resultado de la evaluación de forrajes tropicales dio como resultados que estas plantas equivalen al rendimiento, extracción y valor nutricional de la alfalfa (Anexo 8).

2.8 ÍNDICE DE SOLUBILIDAD DEL NITRÓGENO (NSI)

Este método determina el nitrógeno dispersable en productos a base de soya bajo las condiciones del análisis de acuerdo con “American Oil Chemistry Society” (AOCS Oficial Method Ba 11-65, 2005). “NSI es una medida de la solubilidad de las proteínas en agua ionizada. Una alta solubilidad es muy importante para la industria para así extraer mayor cantidad de proteínas de los productos iniciales como sea posible” (Wikimedia, P. 2005). De acuerdo con Yunusov, T¹ (2005), al pH en el cual se detecta un margen de NSI no variable, se ha encontrado el punto isoeléctrico del alimento o producto en estudio. “El punto isoeléctrico es el pH al que una sustancia anfótera tiene carga neta cero”. (Wikimedia, 2005).

2.9 LIOFILIZACIÓN

“La liofilización es una forma de desecado en frío que sirve para conservar sin daño los más diversos materiales biológicos. El producto se conserva con muy bajo peso y a temperatura ambiente y mantiene todas sus propiedades al rehidratarse, detiene el crecimiento de microorganismos (bacterias, hongos, etc.), inhibe el deterioro de sabor y color por reacciones químicas, el enranciamiento y pérdida de propiedades fisiológicas, facilita el almacenamiento y la distribución. En el proceso, primero se congela el material, y luego el hielo se elimina por sublimación. (INVAP, 2005).

¹ Yunusov, T. 2005. Punto iso-eléctrico de las proteínas (entrevista). Texas A & M University.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 UBICACIÓN

El análisis del NSI en hojas de maíz a los 10 días de crecimiento para hallar el punto iso-eléctrico de dichas hojas, y el análisis del perfil de aminoácidos se realizaron en el Centro de Proteína para Alimentos y en el Laboratorio Químico de Proteínas de la Universidad Texas A & M. Las siguientes etapas de este estudio se realizaron en la Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, de la siguiente manera: las plantas de maíz fueron sembradas y cosechadas en el área de producción, zona II-parte orgánica, la extracción de proteína de las unidades experimentales y el análisis de proteína cruda tuvieron lugar en el Centro de Evaluación de Alimentos (CEA), la liofilización de los extractos se dio en la Planta Agroindustrial de Investigación y Desarrollo (PAID).

3.2 MATERIALES Y EQUIPO

3.2.1 Materiales

- Hojas del maíz variedad HB-104, a diferentes edades del cultivo (10, 25 y 40 días de la siembra).
- Agua potable a temperatura ambiente.
- Agua destilada a temperatura ambiente.

3.2.2 Maquinaria y equipo utilizado

- Máquina agitadora Eberbach corporation
- Balanza de precisión Mettler AE 200
- Centrifugadora IEC Model 2K
- Frascos para centrifugación
- Liofilizador Virtis Freezemobile 0025
- Potenciómetro ORION RESEARCH model 701A/digital ION ANALYZER
- Vasos de precipitación (500-900-1000 mL)
- Frascos Erlenmeyer (1000 mL)
- Balones (450, 500 y 1000 mL)
- Ácido clorhídrico 18%
- Hidróxido de sodio 0.2N
- Frascos para liofilización
- Bandejas plásticas

- Pipetas de 9 mL
- Bolsas para extracto de proteína
- Espátulas
- Tijeras
- Tela porosa para colado
- Papel filtro WHATMAN 125mm
- Embudo
- Batidor mecánico
- Mortero

3.3 DISEÑO EXPERIMENTAL

Se usó un diseño experimental completamente al azar (DCA) con tres diferentes edades de las plantas de maíz (10, 25 y 40 días de la siembra). Se usó el mismo tratamiento de extracción de proteína foliar para todas las edades con cinco repeticiones por edad de las plantas.

Se realizó un perfil de aminoácidos a tres extractos de proteína cruda (unión de cinco repeticiones por edad) con el fin de evaluar la calidad proteica por edad de las hojas del maíz.

3.4 METODOLOGÍA

Para llevar a cabo el presente trabajo, fue necesario realizar los siguientes análisis:

- Análisis de proteína cruda en algunos tejidos de la planta de maíz.
- Determinación del Índice de Solubilidad del Nitrógeno de las hojas del maíz.
- Extracción de la proteína de las hojas del maíz (*Zea mays* Var. HB-104).

3.4.1 Análisis de proteína cruda en algunos tejidos de la planta de maíz

Los niveles finales de proteína cruda en diversos tejidos de la planta de maíz “*Zea mays*” de la variedad HB-104 fueron analizados, con el propósito de seleccionar el tejido que oferte mayor cantidad proteica. Se tomaron muestras de hojas, tallos y hojas del fruto, las cuales luego de ser pesadas, fueron analizadas con el método micro-Kjeldahl en CEA, Zamorano.

3.4.2 Determinación del Índice de Solubilidad del Nitrógeno

Bajo las instrucciones del Dr. Temur Yunusov (2005) de la Universidad de Texas A & M, se aplicó el siguiente procedimiento para determinar el NSI de las hojas del maíz a los 10 días de crecimiento. Así se detalla a continuación:

1. Se pesó 5 g de la muestra y se colocó en un vaso de precipitación de 500 ml. Se midió 200 ml de agua destilada a 30°C. Se añadió agua, al mismo tiempo que se batió con una pequeña espátula. Se continuó batiendo y añadió el resto del agua, usándola para limpiar por completo la espátula pequeña.
2. Se batió la mezcla a 120 RPM con un batidor mecánico por 120 minutos a 30°C con el vaso de precipitación inmerso en un baño maría a 30°C. Se transfirió la mezcla a un frasco de 250 ml de volumen cuidadosamente, lavando todos los residuos que queden en el vaso de precipitación. Se diluyó con agua destilada y se mezclaron todo el contenido en el nuevo frasco.
3. Esta dilución permaneció en reposo por poco tiempo, luego se procedió con la decantación en un tubo centrifugador (40 ml en un tubo de 50 ml). Se centrifugó por 10 minutos a 1500 RPM y se decantó el extra a través de un embudo con papel filtro (Se vigiló el no traspasar ninguna partícula sólida centrifugada al filtro). Se recolectó el filtrado claro en un vaso de precipitación de 100 ml.
4. Se utilizó el método Kjeldahl, utilizando 25 ml de la solución anterior. Los cálculos se ejecutaron con la aplicación de las siguientes fórmulas:

$$a. \text{ Nitrógeno Soluble en agua (\%)} = \frac{(B-S) \times N \times 0.14 \times 100}{\text{peso de la muestra}}$$

Donde:

B = ml de álcali utilizado en la titulación de blanco para el Kjeldahl.

S = ml de álcali utilizado en la titulación de la muestra para el método Kjeldahl.

N = normalidad del álcali utilizado en las titulaciones.

$$b. \text{ Índice de solubilidad del Nitrógeno (NSI)} = \frac{\% \text{ nitrógeno soluble en agua} \times 100}{\% \text{ nitrógeno total}}$$

Para el cálculo del porcentaje total de nitrógeno se requiere realizar la determinación de la proteína cruda en una muestra entera con el método Kjeldahl. (AOCS 2005).

Para determinar el punto iso-eléctrico de las hojas del maíz, se midió el Índice de Solubilidad del Nitrógeno a diferentes niveles de pH, en total seis muestras de extracto proteico a los 10 días de siembra. El pH se redujo con ácido clorhídrico 18% y se elevó con hidróxido de sodio 0.2N, y se siguió el procedimiento anteriormente señalado para hallar el NSI.

3.4.3 Extracción de proteína de las hojas del maíz (*Zea mays* var. HB-104)

Cinco repeticiones de extracto de proteína fueron obtenidas de hojas de maíz a diferentes edades del cultivo (10, 25 y 40 días de la siembra). El proceso de extracción se logró alcanzando el punto iso-eléctrico de las hojas. Se utilizó hidróxido de sodio 0.2N a 24°C para subir el pH inicial, luego se centrifugaron las muestras y finalmente, se llegó al punto iso-eléctrico pH = 4.00, adicionando ácido clorhídrico (18% a 22°C). Como último paso,

luego de eliminar el sobre nadante, las muestras fueron congeladas a -37°C para su posterior liofilización. El proceso de extracción por el punto iso-eléctrico fue previamente experimentado bajo las instrucciones del Dr. Temur Yunusov (2005) en la Universidad de Texas A & M.

3.4.3.1 Cosecha de las hojas del maíz (*Zea mays* var. HB-104). Las hojas del maíz a los 10, 25 y 40 días de la siembra fueron cosechadas completamente al azar en un terreno con un área superficial de $1,147.0\text{ m}^2$, a una densidad de siembra de $32,300\text{ plantas/m}^2$. La planta a los 10 días alcanzó una altura entre 15-20 cm aproximadamente, dependiendo de los factores ambientales que la rodean. Las plantas a los 25 días presentaron una altura promedio de 25-30 cm aproximadamente, con mayor crecimiento foliar, se seleccionaron las primeras hojas (área del cogollo), y a los 40 días de crecimiento la altura promedio de las plantas fue de 180 a 190 cm aproximadamente, con un denotado crecimiento foliar por lo que de igual forma, se seleccionaron las primeras hojas cercanas al área del cogollo.

3.4.3.2 Lavado y secado. El proceso de extracción de proteína en el laboratorio inició con el completo lavado de las hojas, utilizando agua potable. Se dio un lavado final con agua destilada. Después de esto, las hojas fueron colocadas en una cámara con circulación de aire para el pronto secado por aproximadamente 30 minutos.

3.4.3.3 Pesado, picado y mezcla. Una vez las hojas estuvieron limpias y secas, se procedió a pesar 100 gramos de ellas y a colocarlas en una bandeja donde se cortó lo más pequeño posible cada tejido de la hoja, colocando las partes cortadas en un mortero. Una vez cortadas las hojas, se añadió 1000 ml de agua destilada y se molió en el mortero y trituroó lo máximo posible los tejidos celulares.

3.4.3.4 Alcalinización y colado. Se preparó una solución 0.2N NaOH, la cual fue añadida a la mezcla de hojas trituradas y se batió en una máquina agitadora por 30 minutos. Después se cernió y separó el material pastoso, el cual fue desechado. La parte líquida se colocó en un vaso de precipitación, a través de una tela micro-porosa.

3.4.3.5 Centrifugación y acidificación. Se midió el pH final de la solución líquida resultante, llegando aproximadamente a 12.56 de pH. Esta parte líquida se colocó en los recipientes de centrifugación (previa igualdad en peso) para ser centrifugados a 5,000 RPM por 20 minutos. El líquido resultante fue llevado a un pH de 4.00 (punto iso-eléctrico de las hojas de maíz previamente calculado). Se utilizó ácido clorhídrico al 18% para este propósito. Se batió la muestra líquida mientras la titulación para llegar al pH deseado continuaba. Se continuó batiendo hasta tener un pH de 4.00 constante, sin variaciones, y se dejó en reposo para que la precipitación proteica iniciara.

3.4.3.6 Precipitación, eliminación de agua y liofilización. Cuando se eliminó el sobrenadante de la muestra y se tuvo una solución coagulada de proteína, se colocó en recipientes específicos para realizar la liofilización. Estos frascos fueron previamente congelados a -37°C durante 24 horas. La liofilización inició bajo una presión de 1100 militorr y a -45°C , este proceso tomó de 24 a 30 horas según las características propias de este tipo de producto.

3.4.4 Diagrama de Flujo del proceso de extracción de proteína foliar

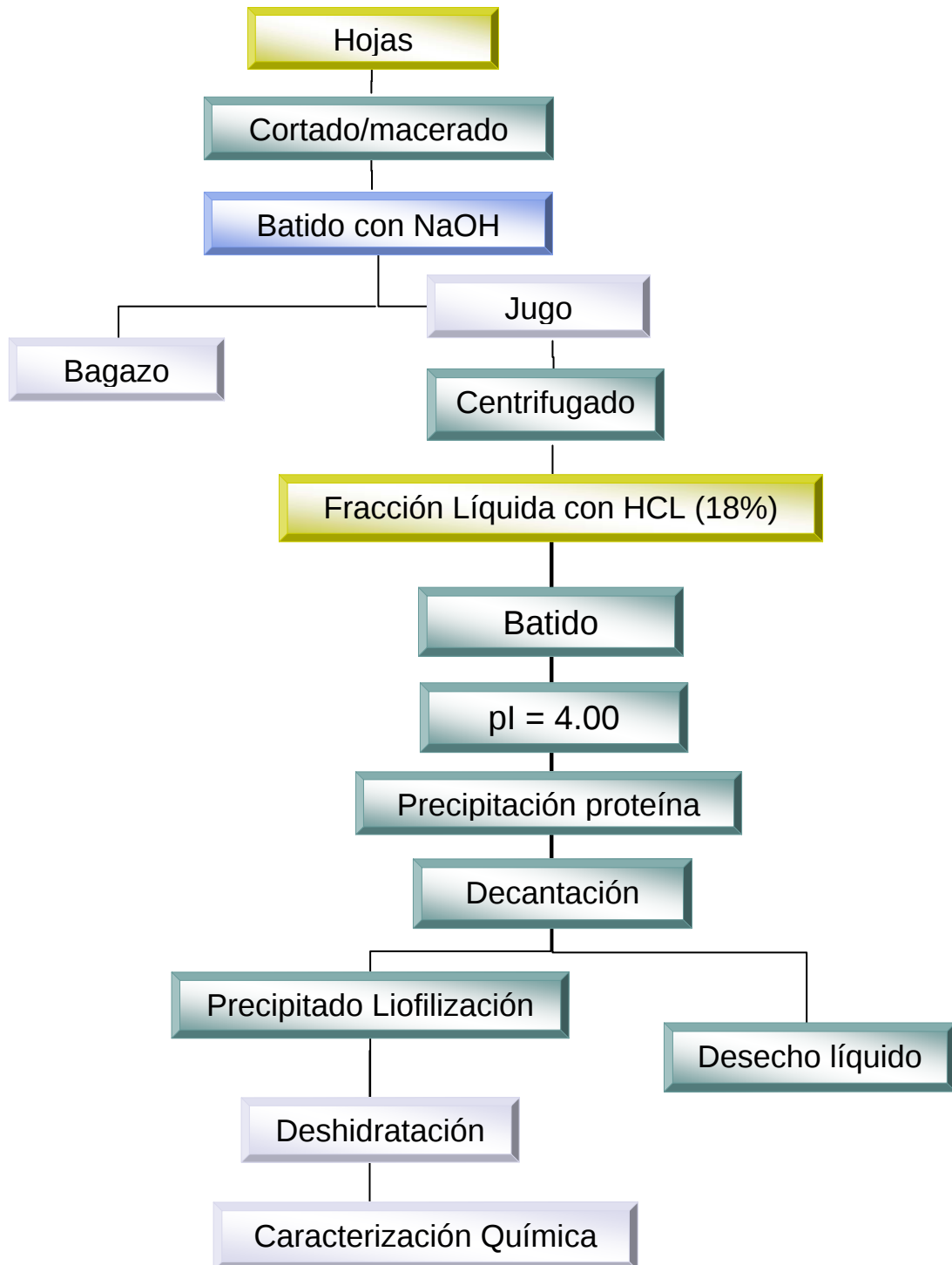


Figura 1. Diagrama de flujo de la extracción de proteína foliar.

3.5 MEDICIONES DURANTE EL PROCESO DE EXTRACCIÓN

3.5.1 Acidez

Durante el proceso de extracción de proteína de las hojas de maíz, se utilizó el potenciómetro digital para medir la acidez o pH en tres etapas del proceso:

1. Se midió en el líquido colado de la mezcla de hojas con hidróxido de sodio 0.2N.
2. La segunda medición se realizó cuando se bajó el pH con ácido clorhídrico (18%), hasta llegar a un pH = 4.00.
3. Se tomó el pH final solo para comprobar el punto iso-eléctrico (pH = 4.00).

3.5.2 Rendimiento

La cantidad total de extracto de proteína foliar del maíz fue determinada mediante la toma de peso directo del extracto proteico final en una balanza digital después de la liofilización y empackado en bolsas plásticas. El rendimiento porcentual fue definido como el número de gramos de extracto proteico a partir de 50 gramos de hojas de maíz, con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Rendimiento} = (\text{gramos de extracto proteico obtenido} / \text{gramos de hojas empleadas}) \times 100.$$

3.6 CARACTERIZACIÓN QUÍMICA

3.6.1 Proteína cruda

Para evaluar la cantidad de proteína cruda de cada muestra de extracto proteico foliar, se utilizó el método Kjeldahl (AOAC # 920.152).

3.6.2 Perfil de aminoácidos

Par conocer el tipo y cantidad de aminoácidos presentes en cada extracto proteico por edad de las plantas de maíz, las muestras fueron enviadas al Laboratorio Químico de Proteínas para efectuar un análisis químico o perfil de aminoácidos utilizando el “Near Infrared Light” (NIR, por sus siglas en inglés).

3.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Al completar el análisis de proteína cruda se realizó un análisis de varianza (ANDEVA), con medias ajustadas utilizando el modelo lineal (GLM, por sus siglas en inglés), del programa “Statistical Analysis System” (SAS®, por sus siglas en ingles) versión 8.0, fijando un nivel de significancia del 95% ($P < 0.05$).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 ESTUDIOS PRELIMINARES

El tejido de las hojas del maíz presentó el mayor porcentaje de proteína cruda en base húmeda (Cuadro 1). Por esto, la hoja del maíz fue el tejido escogido para realizar la extracción de proteína cruda.

Cuadro 1. Contenido de proteína cruda en hojas, tallo y hojas del fruto de la planta de maíz a los 40 días de siembra (en base húmeda).

	Hojas	Tallo	Hojas de jilote
Proteína cruda (%)	3.87	0.91	1.10

Fuente: Centro de Evaluación de Alimentos (CEA). Reporte de laboratorio.

14.2 DETERMINACIÓN DEL NSI

El punto iso-eléctrico de las hojas de maíz (*Zea mays* Var. HB-104) fue determinado a los 10 días de crecimiento de la planta bajo el proceso dirigido por el Dr. Yunusov¹ (2005). Esto se logró determinando el Índice de Solubilidad del Nitrógeno varía normalmente, a diferentes rangos de pH (Cuadro 3). Se encontró el punto Iso-eléctrico entre el rango de pH = 3.00 a 4.00. Esto facilitó la fase de extracción de proteína al conocer que en este punto, la proteína inició a agregarse y luego se precipitó.

Cuadro 2. Índice de Solubilidad del Nitrógeno (NSI) y Punto Iso-eléctrico de las hojas de maíz a los 10 días de crecimiento.

Muestras extracto proteico	pH inicial con agua ionizada	pH final después de titulación	(% N x 6.25)	NSI
1	5.13	2.00	1.50	61.22
2	5.15	2.86	1.27	51.84
3	5.16	4.05	1.30	53.06
4	5.36	6.29	1.59	64.90
5	5.20	8.33	1.56	63.67
6	5.15	10.31	1.53	62.45

4.3 RENDIMIENTO

A los 40 días de edad de la planta, el rendimiento del extracto proteico foliar del maíz es significativamente superior al de las demás edades evaluadas (Cuadro 4). Este resultado era esperado (Cuadro 5), ya que a mayor edad del cultivo, más fibroso el material de las hojas, por lo que aumenta la materia seca.

Cuadro 3. Resultados del ANDEVA para el rendimiento del extracto proteico foliar liofilizado (peso en gramos).

	Rendimiento
GL	2
Valor F	16.11
P>F	0.0004
R ²	0.7286
CV (%)	19.83

Cuadro 4. Resultados de la separación de medias para el rendimiento del extracto proteico foliar de la planta del maíz.

Edad (días de siembra)	Rendimiento ¹ (g)
10	0.44 C
25	0.68 B
40	0.93 A

¹. Promedios con letra diferente son significativamente diferentes ($P < 0.05$).

4.4 ANÁLISIS DE PROTEÍNA CRUDA

El contenido proteico extraíble a los 10 días de la siembra de maíz es significativamente superior al contenido porcentual proteico de las demás edades del follaje de maíz (Cuadro 6 y 7). Esto sustenta que la planta es autótrofa durante los primeros días de su vida adquiriendo el alimento exclusivamente del grano o semilla, después de los 10 días de siembra, la planta comienza a absorber nutrientes del suelo.

Cuadro 5. Resultados ANDEVA en el porcentaje de proteína cruda (micro-Kjeldahl % N X 6.25) en el extracto por edad de las hojas del maíz (en base seca).

	PC
GL	2
Valor F	22.05
P>F	0.0001
R ²	0.7860
CV (%)	17.006

Cuadro 6. Resultados de la separación de medias de la proteína cruda (%N X 6.25) del extracto proteico foliar del maíz.

Edad (días de siembra)	Proteína cruda final (% N X 6.25) ¹ (%)
10	14.32 A
25	10.65 B
40	6.76 C

¹. Promedios con letra diferente son significativamente diferentes (P < 0.05).

4.5 ANÁLISIS DE AMINOÁCIDOS

En el perfil de aminoácidos de los extractos proteicos foliares, los aminoácidos esenciales muestran una tendencia a reducirse en cantidad conforme avanza la edad de la planta del maíz, mientras que los demás aminoácidos aumentan su concentración debido a la función estructural que éstos cumplen en la hoja del maíz.

La proteína de la hoja de maíz joven demuestra ser de buena calidad según el perfil de aminoácidos realizado, ya que comparando la cantidad de aminoácidos esenciales con los del grano de maíz y de soya (patrones encontrados en la FAO, 2005), se tiene que:

- La **Histidina** encontrada en todas las edades del extracto proteico foliar cubre los requerimientos tanto de niños entre 2-5, 10-12 años y en adultos. (A los 10 y 25 días, el extracto tiene mayor cantidad de histidina que la presente en el grano de maíz y soya (Cuadro 8)). La importancia de la histidina en la alimentación de niños es importante, ya que la producen pero en forma deficiente.
- Con la **Isoleucina, Fenilalanina y Tirosina** en el extracto a los 10 y 25 días de siembra, cubre todos los requerimientos a cualquier edad y es superior a la presente en el grano de maíz, sólo un poco menor a la encontrada en el grano de soya. A los 40 días sólo cubre el requerimiento de los adultos y es menor la cantidad que en el grano de maíz y soya (Cuadro 8).
- La **Leucina** del extracto proteico a los 10 días es igual a la presente en el grano de soya y un poco inferior comparado con el grano de maíz. A los 10 y 25 días cubre todas las necesidades humanas, y a los 40 días para personas de 10 años en adelante.

- La **Lisina** de la proteína extraída a los 10 días de siembra es igual a la presente en el grano de soya, y superior a la presente en el grano de maíz. En los extractos de 10 y 25 días cubren todos los requerimientos de la dieta humana, y en el extracto a los 40 días sólo satisface el requerimiento de adultos.
- La **Treonina** y **Valina** se encuentran presentes en el extracto a 10 y 25 días de siembra, en mayor cantidad que en el grano de maíz y soya e inclusive que la carne. (únicos aminoácidos que están en proporción superior a los de la carne). Cubren todos los requerimientos para adultos y niños a cualquier edad y a los 40 días sólo para personas de 10 años en adelante.
- El extracto proteico a las tres edades de siembra presenta presencia insuficiente de aminoácidos esenciales azufrados, es decir, **Metionina** y **Cisteína**.
- El **Triptófano** no pudo ser evaluado, por el alto costo de su análisis.

Cuadro 7. Perfil de aminoácidos en el extracto proteico de las hojas de maíz a diferentes edades de crecimiento y comparación con otros perfiles.

Amino ácidos nombres	Amino ácidos (Abreviados)	WHO/FAO ¹ gAA/100g			Maíz ¹ guate malteco	Carne	Grano ¹ de soya	Hoja de maíz ² HB-104	Hoja de maíz ² HB-104	Hoja de maíz ² HB-104
		2-5 Años	10-12 años	adultos	grano blanco			10 días de siembra	25 días de siembra	40 días de siembra
Histidina	His	1.9	1.9	1.6	2.1	3.4	2.6	2.75	2.8	2.1
Isoleucina	Ile	2.8	2.8	1.3	2.6	4.8	4.9	4.5	3.9	2.5 ⁸⁹
Leucina	Leu	6.6	4.4	1.9	10.5	8.7	8.2	8.2	7.7	4.5 ⁶⁸
Lisina	Lys	5.8	4.4	1.6	2.8	6.8	6.3	6.3	6.5	4.3 ⁷⁴
Metionina + Cisterna	Met + Cys	2.5	2.2	1.7	2.7	4.0	2.6	1.1 ⁴⁴	1.4 ⁵⁶	1.6 ⁶⁴
Fenilalanina + Tirosina	Phe + Tyr	6.3	2.2	1.9	7.3	9.0	9.0	8.3	7.7	4.7 ⁷⁵
Treonina	Thr	3.4	2.8	0.9	3.1	4.2	3.8	4.4	4.4	3.3 ⁹⁷
Triptófano	Trp	1.1	0.9	0.5	0.63	1.2	1.3			
Valina	Val	3.5	2.5	1.3	4.1	5.0	5.0	5.5	5.2	3.4 ⁹⁷
Asparagina	Asn							12.4	12.1	15.5
Glutamina	Gln							15.9	15.0	14.6
Serina	Ser							5.9	7.3	14.6
Glicina	Gly							5.0	5.1	7.1
Alanita	Ala							7.9	9.3	13.4
Arginina	Arg							8.0	7.3	6.0
Prolina	Pro							3.9	4.2	2.3

¹ Fuente: FAO. 2005.

² Fuente: Protein chemical laboratory. Texas A&M University.

⁴⁴ Puntuación química de Metionina y Cisteína tomando como referencia los requerimientos de 2-5 años (10 días de la siembra).

⁵⁶ Puntuación química de Metionina y Cisteína tomando como referencia los requerimientos de 2-5 años (25 días de la siembra).

^{89, 68, 74, 64, 75, 97, 97} Puntuación química de varios aminoácidos tomando como referencia los requerimientos de 2-5 años (40 días de la siembra).

5. CONCLUSIONES

- El porcentaje de proteína cruda en el follaje del maíz disminuyó significativamente a medida que la planta continuó creciendo.
- El rendimiento de extracción de la proteína foliar del maíz aumentó significativamente conforme la planta continuó creciendo.
- Mientras más joven el follaje del maíz mayor calidad por la cantidad de aminoácidos esenciales presentes, comparables con los del grano de soya y maíz, excepto por los aminoácidos azufrados. Aminoácidos limitantes son Metionina y Cisteína.

6. RECOMENDACIONES

6.1 A CORTO PLAZO

- Asegurarse de tener los fondos de investigación suficientes para realizar al menos una repetición más del análisis del perfil de aminoácidos (\$200 cada uno) para poder hacer una comparación estadística de aminoácidos por edad, y poder obtener también al menos dos repeticiones de la evaluación química del triptófano.

6.2 A MEDIANO PLAZO

- Realizar un análisis de vida útil a mediano y largo plazo del extracto proteico manejando todas las posibles variaciones como temperatura y humedad.
- Realizar un análisis completo de la calidad proteica extraída de las hojas de maíz a diferentes edades del cultivo, como el Coeficiente de eficacia biológica (PER, por sus siglas en inglés) y Puntuación de los Aminoácidos de las Proteínas Corregidas según la digestibilidad (PDCAAS, por sus siglas en inglés).
- Decidir futuras investigaciones probando otros métodos de extracción, otras variedades de maíz y diferentes edades del cultivo a las aquí analizadas, para poder ampliar el rango de comparación.
- Considerar el brote de plantas de maíz en estado natural a los 10 días de crecimiento, como un nuevo producto para el consumo humano, por ejemplo en ensaladas, sustentada en un análisis de mercado y estudio de factibilidad del mismo.
- Investigar propiedades funcionales de los productos logrados, a diferentes grados de purificación del extracto proteico foliar.
- Investigar aplicaciones como proteínas hidrolizadas, por ejemplo en productos sustitutos de la leche según la demanda del mercado.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Charnell. 2002. "Near Infrared (NIR) Spectroscopy" (En línea). Consultado en Septiembre 4 de 2005. Disponible en: http://www.nrel.gov/education/pdfs/c_clarke.pdf
- Cheftel. et al. 1996. Lebensmittelproteine: Biochemie, funktionelle Eigenschaften, 324 Pág.
- Codex Alimentarius. 2004. "Directrices Generales del Codex para la Utilización de Productos Proteínicos Vegetales (PPV) en los alimentos CAC/GL 4-1989". (En línea). Consultado en Septiembre 28, 2004. Disponible en: <http://www.codexalimentarius.net/search/advancedsearch.do>
- De León. 2001. "Zea maiz". (En línea) Consultado en Septiembre 25, 2004. Disponible en: http://www.redpav-fpolar.info.ve/agrotrop/v49_4/a494a004.html
- FAO. (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación). "Cereales en la alimentación humana". (En línea). Consultado en Agosto, 21 del 2005. Disponible en: http://www.fao.org/documents/show_cdr.asp?url_file=/DOCREP/006/W0073S/w0073s0u.htm
- Glosario de Aminoácidos. (2005). "Aminoácidos esenciales". (En línea). Consultado en Julio, 21 del 2005. Disponible en: <http://www.uned.es/pea-nutricion-y-dietetica-I/guia/guianutr/compo3.htm>
- INVAP. 2005. "Liofilización industrial". (En línea). Consultado en Agosto 03 del 2005. Disponible en: <http://www.invap.net/indus/liofilizacion/>
- Knight. 1976. "Achieves" (en línea). Consultado en Septiembre 21, 2004. Disponible en: <http://www.archiveshub.ac.uk/news/04072302.html>.
- Lehninger. 2002. Universidad autónoma del Estado de Morelos. Bioquímica. "Aminoácidos y proteínas". (En línea). Consultado en Septiembre 2 de 2005. Disponible en: html.rincondelvago.com/aminoacidos-y-proteina
- Mahan. Escott-Stump, S. Krause's Food, Nutrition, & Diet Therapy, 9th edition. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1996.
- Maid. 1999. "Proteínas". (En línea). Consultado en Agosto 13, 2004. Disponible en: <http://www.monografias.com/trabajos/alimentos/alimentos.shtml>

- Monterola et al., 1999. “Pastura de Maíz”. (En línea). Consultado en Julio 01, 2005. Disponible en: <http://www.pasturasdeamerica.com/conservacion/maiz.asp>
- Muller & Riel. 1996. “Tecnologías de América del Norte para el Procesamiento de alimentos”. IICA. Serie Documentos de Programas N° 19. San José. CR. 132 Pág.
- OMS 2004. “Proteínas vegetales”. (En línea). Consultado en Julio 5, 2005. Disponible en: <http://perso.wanadoo.es/brida1925/prtoteinasveget.htm>
- Rangkuti. 2000. “Corn straw”. (En línea). Consultado en Septiembre 24, 2004. Disponible en: <http://www.unu.edu/unupress/unupbooks/80362e/80362E04.htm#The%20value%20of%20some%20agricultural%20by-products>
- Rehner, Daniel, H. 1999. *Biochemie der Ernährung*, Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg.
- Ribeiro. 2004. “Maíz Bt”. (En línea). Consultado en Julio 21, 2005. Disponible en: http://www.chasque.net/rapaluy/maizBT/maiz_Bt_11.html
- RNA. 2004. “Proteína gráfico”. (En línea). Consultado en Septiembre 5, 2005. Disponible en: <http://bifi.unizar.es/jsancho/estructuramacromoleculas/15plegacnucl/RNAdefectos.JPG>
- T-Group. 2003. “Aminoacid perfile”.(En línea). Consultado en Septiembre 5, 2005. Disponible en: www.arrakis.es/~lluengo/pproteinas.html
- Tokar. (2003). “Organismos genéticamente modificados”. (En línea). Consultado en Julio, 21 del 2005. Disponible en: <http://www.grain.org/biodiversidad/?id=138>
- USDA. 2001. “Leaf protein extraction from Tropical Plants”. (En línea). Consultado en Septiembre 27, 2004. Disponible en: <http://www.wws.princeton.edu/cgibin/byteserv.prl/~ota/disk3/1983/8315/831508.PDF>. Sólo resumen.
- Whetstone. et al. 2001. Division of Emergency Medicine. “Residuos químicos”. (En línea). Consultado en Septiembre 4, 2005. Disponible en: <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ency/article/002498.htm>
- Wikimedia Project, 2005. “Aminoácidos esenciales”. (En línea). Consultado Julio 29, 2005. Disponible en: <http://es.wikipedia.org/wiki/Amino%C3%A1cido>

8. ANEXOS

Anexo 1. Plantas tropicales seleccionadas para la producción de concentrados de proteínas foliares.

Table 2.—Selected Plants for Leaf Protein Concentrates Production					
Plants	Dry matter yield Mg/he/year	% Protein of dry matter	% protein extractability	Biological nitrogen fixation	Regrowth
Brassica napus	28	25.4	62.4		P o o r
Centrosema pubescens	12	18.8	37.2	+	Good
Clitoria ternatea	28	24.0	59.8	+	Good
Desmodium distortum	11	18.0	47.9	+	Good
Lablab purpureus	19	28.4	58.1	+	Good
Macroptilium lathyroides	12	26.0	59.0	+	Good
Psophocarpus cetragnolobus	20	22.2	53.6	+	Fair
Sesbania sesban	20	28.6	40.2	+	Fair
Vigna radiata	16	22.9	47.8	+	Fair
V. unguiculata	25	19.5	52.0	+	Fair
SOURCE:Telek(77).					

Fuente: USDA 2001. <http://www.wws.princeton.edu/ota/disk3/1983/8315/831508.PDF>

Anexo 2. Composición química de 96 muestras de residuos (hojas y tallo) de maíz después de la cosecha.

Components	MAX	MIN	RANGE	MEAN	STDEV	COUNT
total_glucan	44.6	38.1	6.5	41.7	1.2	96
struct_glucan	38.8	30.0	8.9	35.5	1.8	96
Soluble Glucose	9.3	3.4	5.8	6.2	1.4	96
xylan	21.6	15.2	6.3	19.0	1.6	96
lignin	17.9	12.4	5.5	15.8	1.3	96
protein	5.6	2.0	3.5	3.2	0.7	96
acetyl	3.5	2.2	1.3	2.9	0.2	96
uronic_acids	3.2	2.1	1.1	2.8	0.2	96
galactan	2.0	1.0	1.0	1.6	0.2	96
arabinan	2.9	1.7	1.2	2.4	0.3	96
mannan	1.1	0.0	1.0	0.5	0.2	96
st_inorg	10.2	2.2	8.0	6.0	1.7	96
soil	1.7	1.3	0.4	1.5	0.1	96
Mass Closure	100.4	91.8	8.6	97.4	1.8	96
Global H	2.8	0.7	2.1	1.6	0.5	96
Neighborhood H	1.5	0.3	1.2	0.7	0.3	96

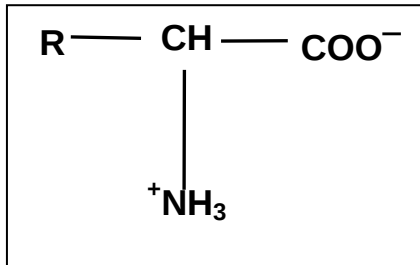
Fuente: Charnell 2002. http://www.nrel.gov/education/pdfs/c_clarke.pdf

Anexo 3. Análisis proximal de algunos subproductos agrícolas (% base seca).

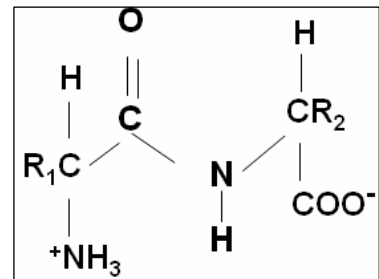
	Fuente	Materia seca	Proteína Cruda	Fibra cruda	Extracto etéreo	Nitrógeno libre	Cenizas	Calcio	Fósforo
Rastrojo	LPP	-	3.93	33.00	0.87	39.77	22.44	-	-
de	Sv	-	3.92	26.51	1.95	40.03	22.01	0.42	0.40
arroz	Toha	-	2.51	46.50	0.55	34.20	18.20	-	-
Rastrojo	Sv	-	10.51	29.48	2.94	36.62	13.34	0.38	0.50
de maíz	Lubis	-	3.3	20.20	0.70	31.40	4.4	0.18	0.36
Rastrojo	Sv	-	13.10	-	2.62	-	20.54	-	-
de cacahuete									

Fuente: Rangkuti 2000. <http://www.unu.edu/unupress/unupbooks/80362e/80362E04.htm>

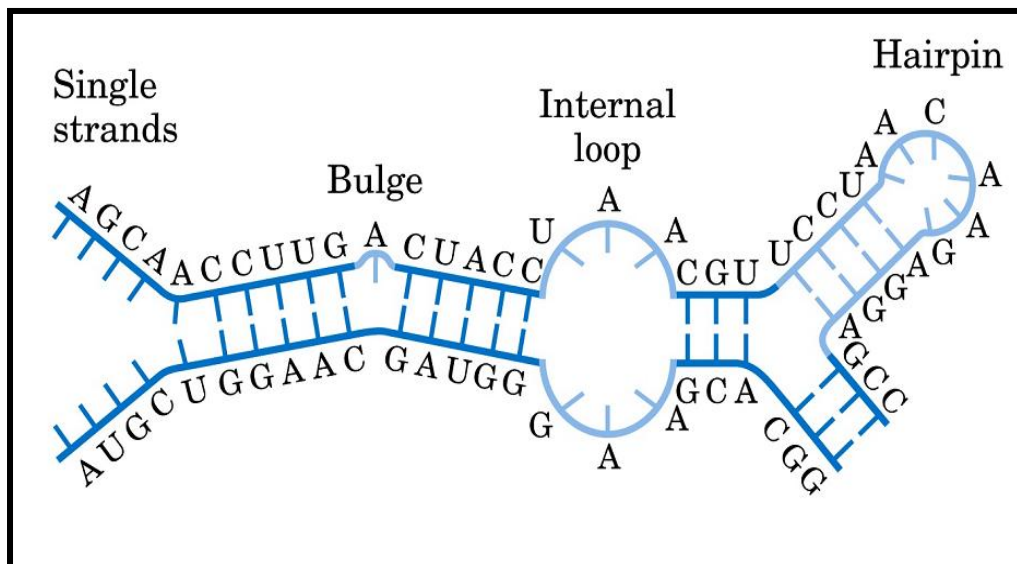
Anexo 4. Estructura química de aminoácidos.



*Fuente: Mahan, L.K. et al. (1996).



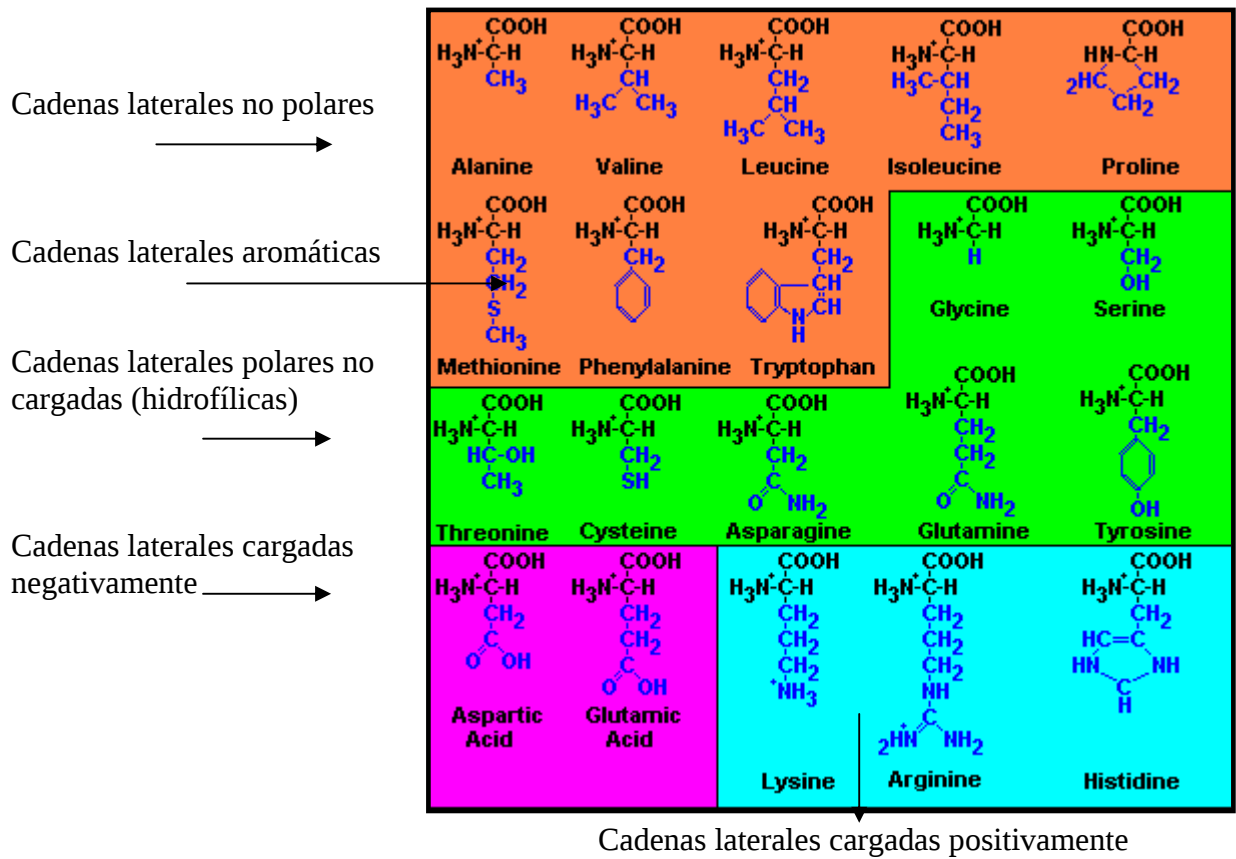
R_1 y R_2 son cadenas laterales de aminoácidos



Fuente: RNA. 2004.

<http://bifi.unizar.es/jsancho/estructuramacromoleculas/15plegacnucl/RNAdefectos.JPG>

Anexo 5. Tipos de aminoácidos.



Fuente: T-group. 2003. www.arrakis.es/~lluengo/pproteinas.html

Anexo 6. Aminoácidos esenciales.

Aminoácidos esenciales en la dieta humana	
1	Histidina***
2	Valina
3	Metionina* (y Cistina)
4	Fenilalanina** (y Tirosina)
5	Treonina
6	Isoleucina
7	Leucina
8	Triptófano
9	Lisina

Fuente: Lehninger 2002. <http://rincondelvago.com/aminoacidos-y-proteina>

- Necesario para la síntesis de cisteína.
- ** Necesario para la síntesis de tirosina.
- *** Necesario sólo para niños. (Rehner, G. et al. 1999).

Anexo 7. Composición de aminoácidos esenciales en concentrados de proteína foliar de especies tropicales.

Table 4.—Essential Amino Acid Composition of LPC From Tropical Species											
Source of LPC	gm amino acid/100 g recovered amino acid										
	Arg	Hist	Iso	Leu	Lys	Meth	Phe	Thr	Val	1/2 cyst	
<i>Leucaena leucocephala</i>	6.4	2.2	5.0	9.1	6.3	2.4	5.9	4.8	6.0	0.7	
<i>Manihot esculenta</i> ^a	6.3	2.4	5.4	4.3	6.5	2.5	7.0	4.9	6.0	0.8	
<i>Manihot esculenta</i> ^b	6.0	2.4	5.2	9.1	6.4	2.4	6.8	5.2	5.7	0.7	
<i>Vigna unguiculata</i>	6.7	2.4	5.4	9.4	5.8	2.7	7*5	5.3	6.4	0.6	
<i>Clitoria ternatea</i>	6.1	2.2	5.8	9.1	6.1	2.4	7.2	5.2	6.2	2.0	
<i>Desmodium distortum</i>	6.1	2.6	5*5	9.4	6.5	2.6	7.3	5.0	6.0	0.6	
<i>Psophocarpus tetragonolobus</i>	6.2	2.6	5.4	9.3	6.4	2.5	7.1	5.2	6.4	0.6	
<i>Macroptilium lathyroides</i>	6.6	2.5	5.6	9.7	5.4	2.7	7.5	5.0	6.4	0.6	
<i>Phaseolus calcaratus</i>	6.0	2.5	5.4	9.2	6.4	3.0	7.1	5.1	6.2	0.7	
<i>Brassica napus</i>	6.2	2.6	5.3	9.3	5.8	2.6	7.5	5.3	6.4	0.7	
<i>Medicago sativa</i> ^c	6.5	2.3	5.6	9.3	5.9	2.3	5.9	5.1	6.3	0.6	

^a Dried in air conditioned room.

^b Dried in microwave oven.

^c Kuzmicky and Kohler (1977) .

SOURCE: Cheeke (17).

Fuente: USDA 2001. <http://www.wws.princeton.edu/ota/disk3/1983/8315/831508.PDF>

Anexo 8. Comparación del perfil de aminoácidos esenciales del huevo (como proteína estándar) con *Amaranthus hybridus*, alfalfa y Comfrey ruso.

Amino ácidos	Aminoácidos con % proteína cruda				% Deficiencia comparada con la proteína del huevo		
	Proteína del huevo	<i>Amaranthus</i> (29% PC)	Alfalfa (23% PC)	Comfrey (16% PC)	<i>Amaranthus</i>	Alfalfa	Comfrey
Arginina	6.60	5.86	5.65	5.44	11.2	14.4	17.6
Histidina	2.40	1.45	1.74	1.63	39.6	27.5	32.1
Isoleucina	6.60	2.79	4.35	4.88	57.7	34.1	26.1
Leucina	8.80	5.45	6.52	6.81	38.1	25.9	22.6
Lysina	6.60	4.03	4.78	3.69	38.9	27.6	44.1
Fenilalanina	5.80	3.69	4.35	4.94	36.4	25.0	14.8
Threonina	5.00	3.82	3.48	5.00	23.6	30.4	0.0
Valina	7.40	3.52	4.78	6.81	52.4	35.4	8.0

Fuente: FAO (2005). <http://www.fao.org/Wairdocs/ILRI/x5519B/x5519b12.htm>