

## Efecto del tratamiento térmico sobre el contenido de aminoácidos esenciales de una galleta proteica formulada a partir de plasma bovino.<sup>1</sup>

Effect of heat treatment on essential amino acids content of protein cookie formulated from bovine plasma.

Enrique Márquez<sup>2</sup>  
Lisbeth Rangel<sup>2</sup>  
Anangelina Archile<sup>2</sup>  
Oswaldo Gómez<sup>2</sup>  
Pedro Izquierdo<sup>2</sup>  
Yasmina Barboza<sup>2</sup>

### Resumen

El uso de las proteínas sanguíneas en la formulación de alimentos ha sido sugerida como una alternativa para incrementar el consumo proteico. Actualmente, se ha elaborado una galleta proteica, usando plasma bovino como fuente de proteína animal, para ser suministrada a niños en edad escolar. Para la elaboración de esta galleta se requiere aplicar tratamiento térmico el cual puede alterar los aminoácidos esenciales presentes. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del tratamiento térmico sobre el contenido final de aminoácidos esenciales de la galleta. Para la formulación del producto se utilizó plasma de bovino, el cual fue mezclado con harina de trigo y otros ingredientes. La mezcla fue sujeta a tratamiento térmico (120 °C/1 hora). El contenido de aminoácidos esenciales fue determinado utilizando la técnica de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Los resultados indican que el plasma de bovino y la galleta proteica poseen todos los aminoácidos esenciales. El tratamiento térmico utilizado no afectó ( $P < .05$ ) el contenido de aminoácidos esenciales en el producto final.

**Palabras claves:** Plasma de bovino, aminoácidos esenciales, galleta.

### Abstract

The use of blood protein in the formulation of food has been suggested as an alternative to increase protein consumption. Currently, proteic cookies have been produced, using bovine plasma as a source of animal protein, for children at

Recibido el 04-12-1995 • Aceptado el 18-04-1996

1. Proyecto financiado por el CONDES y la Facultad de Ciencias Veterinarias.

2. Unidad de Investigación Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Facultad de Ciencias Veterinarias, LUZ. Apartado 526-Maracaibo 4011, Venezuela.

school age. To produce these cookies it is required to apply thermal treatment which may have a detrimental effect on the essential aminoacids content. The purpose of this work was to evaluate the effect of thermal treatment on the final aminoacids content of the cookies. Products were formulated using bovine plasma as a source of animal proteins. Plasma was mixed with wheat flour and other ingredients. To obtain the final products the mixture was subjected to thermal treatment (120 °C/1 h). Essential aminoacids were determined by high resolution liquid chromatography (HPLC) technique. Results indicated that both bovine plasma and the protein cookies have all the essential aminoacids. The thermal treatment applied did not affect ( $P < .05$ ) the essential aminoacids content of the final product.

**Key words:** Bovine plasma, essential amino acids, cookie.

## Introducción

Debido al incremento poblacional y a la deficiencia en la producción de proteínas, principalmente de origen animal, se hace necesario buscar nuevas fuentes alimenticias basadas principalmente en su contenido proteico.

La sangre pudiera ser una de estas fuentes, debido a la alta cantidad de proteínas que presenta (18 %). Su fácil digestibilidad y la calidad en la composición de sus aminoácidos, le confieren a estas proteínas un alto valor biológico (8, 15).

Actualmente las proteínas sanguíneas se utilizan en la formulación de alimentos concentrados para consumo animal, en la formulación de medios de cultivos y en la formulación de alimentos para consumo humano (1, 3, 6, 7, 9, 12).

En la Unidad de Investigación en Ciencia y Tecnología de los Alimentos de la Facultad de Ciencias Veterinarias (LUZ), ha elaborado una galleta proteica a base de plasma de bovino,

para ser distribuida a niños en edad escolar; sin embargo, para la elaboración de la misma se requiere someter la mezcla a tratamientos térmicos alrededor de 120 °C/1 hora.

Es conocido que el valor nutricional de las proteínas no depende exclusivamente de su composición inicial, ya que se conoce que en todo alimento las condiciones de tratamiento pueden alterar su valor nutritivo. Los tratamientos térmicos muy intensos desnaturalizan las proteínas y en particular disminuyen su solubilidad, así como también se destruyen algunos aminoácidos, lo cual disminuye el valor nutricional de la proteína (14, 16).

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto del calor (120 °C/h) sobre los aminoácidos esenciales presentes en la galleta proteica formulada a base de plasma de bovino.

## Materiales y métodos

**Materia prima.** El plasma se obtuvo por centrifugación de sangre de bovino procedente del Frigorífico Industrial Bolívar del Estado Zulia. Para la toma de la muestra se utilizaron recipientes de 1 litro que contenían 100 mL de anticoagulante. El anticoagulante utilizado fue una solución al 2 % de tripolifosfato de sodio (11).

**Preparación de la mezcla.** Los ingredientes utilizados en la preparación de la mezcla se muestran en el cuadro 1.

Plasma de bovino fue cocido a vapor hasta alcanzar una temperatura interna de 80 °C. Posteriormente fue enfriado y mezclado con el resto de los ingredientes en una licuadora industrial, hasta lograr una emulsión estable. La temperatura final de la emulsión fue de 16 °C.

**Elaboración de la galleta proteica.** La mezcla preparada fue transferida a unas bolsas decoradoras para darle a la galleta la forma deseada, posteriormente fue llevada a unas bandejas de acero inoxidable y sometida a una temperatura de 120°C durante 1 hora en un horno DIPAN SR-12 con bandeja rotatoria.

### Determinación de humedad

**y proteína:** Al plasma de bovino, harina de trigo y a la galleta proteica se les determinó el contenido de humedad mediante el método de secado en horno (2), y proteína según el método de Kjeldahl (2).

**Preparación de las muestras.** Se midió 0.4 mL de plasma de bovino, 50 mg de harina de trigo y 50 mg de galleta elaborada a base de proteína plasmática; posteriormente se llevaron individualmente a tubos de hidrólisis y se les adicionó 10 mL de HCl 6 N. Se desplazó el aire con Nitrógeno gaseoso y se cerró el tubo herméticamente. La hidrólisis se realizó a 145 °C por 20 horas. Se dejó enfriar a temperatura ambiente y se ajustó el pH hasta 2.2 con NaOH 6N. Se filtró a través de papel de filtro Whatman número 1 y se diluyó con buffer citrato 2M pH 2.2 hasta 100 mL en balones volumétricos. Se filtró nuevamente a través de un filtro millipore de 0.22 µm de poro.

**Derivatización.** Las muestras y los estándares fueron derivatizados pre-columna en forma automatizada al momento de la inyección, utilizando un inyector Shimadzu modelo SIL6E. A 75 µl de muestra (estándar o hidrolizado) se le agregó 300 µl de la solución

**Cuadro 1. Formulación de la mezcla para la preparación de la galleta proteica.**

| Ingredientes     | Composición (%) |
|------------------|-----------------|
| Plasma de bovino | 62.0            |
| Harina de Trigo  | 14.0            |
| Aceite           | 7.9             |
| Azúcar           | 10.0            |
| Vainilla         | 6.0             |

fluorescente de Orthoptalaldehyde (OPT). El tiempo programado para la inyección fue de 2 minutos, después de la derivatización.

**Análisis de aminoácidos.** Los aminoácidos esenciales de la materia prima y del producto se determinaron por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) mediante la utilización de un cromatógrafo marca Shimadzu, equipado con un detector de fluorescencia FLD6A, 2 bombas de alta presión modelo LC-6A provistas de una cámara mezcladora de solventes, un horno para columna CTO-6A. Se inyectó 20 µl de muestra utilizando un inyector automático modelo SIL6B y un sistema controlador SCL-6B. Para detectar los aminoácidos se empleó un detector de fluorescencia FLD6A a una longitud de onda de excitación de 350 nm. Se utilizó una columna ALTEX ultrasphere ODS, 5U, C18. El tiempo de retención y el área bajo la curva se

obtuvo mediante un integrador Chromatopac CR-4A. Se utilizaron dos sistemas de solventes, un sistema A compuesto por buffer acetato 0.05M, metanol y tetrahidrofurano (THF), (80:19:1); un sistema B compuesto por metanol y buffer acetato (80:20). El pH del buffer estuvo en el rango de 5.9 a 6.8. Se utilizó un gradiente binario en combinaciones tanto isocrática como de incremento lineal del solvente B. El flujo fue de 1.05 ml/min y la temperatura de la columna de 35 °C. Un estándar (Sigma Lab.) con concentración de 50 nmol/mL por aminoácido se utilizó como referencia para la cuantificación de los aminoácidos.

**Análisis estadístico.** Los datos obtenidos se analizaron utilizando el SAS PROC GLM (13). Las medias de los diferentes tratamientos se compararon utilizando el procedimiento de Duncan (5). Las diferencias se declararon a un nivel de 5 % de probabilidad.

## Resultados y discusión

El contenido proteico y la humedad del plasma de bovino, harina de trigo y la galleta proteica se muestra en el cuadro 2. La galleta proteica contiene un 16 % de proteínas, seguido por la harina de trigo (8.0 %) y el plasma de bovino (7.4 %). En relación al contenido de humedad, el mayor porcentaje está representado por el plasma líquido (92.0 %), seguido por la harina de trigo (7.0 %) y la galleta proteica (4.0 %). La baja humedad de la galleta proteica permite su almacenamiento a temperatura ambiente.

La concentración de aminoácidos esenciales en la materia prima utili-

zada en la formulación de la galleta proteica se expresó en gramos de aminoácido por 100 g de proteína (cuadro 3). Los resultados muestran que la materia prima utilizada contiene todos los aminoácidos esenciales. El plasma de bovino contiene en mayor cantidad leucina y lisina, y en menor proporción aminoácidos azufrados (Met + Cis). La harina de trigo contiene mayor cantidad ( $P < .05$ ) de aminoácidos azufrados que el plasma, por lo que la mezcla de ambos ingredientes se complementan.

Se ha señalado que las proteínas de origen animal, contienen aminoáci-

**Cuadro 2. Contenido proteico y humedad de la materia prima y de la galleta proteica.**

| Características | Plasma            | Harina de trigo  | Galleta proteica  |
|-----------------|-------------------|------------------|-------------------|
| Proteína (%)    | 7.4 <sup>a</sup>  | 8.0 <sup>a</sup> | 16.0 <sup>b</sup> |
| Humedad (%)     | 92.0 <sup>a</sup> | 7.0 <sup>b</sup> | 4.0 <sup>c</sup>  |

a, b, c: Medias en una misma línea y con diferentes superíndices difieren significativamente ( $P < .05$ ).

dos esenciales en las proporciones requeridas para cubrir nuestras necesidades, lo que no sucede con las proteínas de origen vegetal, como es el caso de los granos de cereales (4). La eficiencia de la proteína de origen animal, desde el punto de vista del crecimiento, es aproximadamente dos veces mayor que las proteínas de los cereales (4). El alto contenido proteico y la presencia de todos los aminoácidos esenciales en el plasma de bovino, hacen de éste una fuente potencial de nutrientes para los organismos vivos, por lo que su utilización representa una opción económica para la producción

de alimentos de alto valor nutritivo y a su vez de bajo costo, accesibles a personas de bajos recursos económicos

El contenido de aminoácidos esenciales en la mezcla y galleta elaborada con plasma de bovino se expresó como gramos de aminoácido por 100 g de proteína (cuadro 4). La mezcla y la galleta proteica presentan todos los aminoácidos esenciales. No se observó diferencias significativas en el contenido de aminoácidos esenciales en la mezcla y en la galleta proteica.

Se ha reportado que la esterilización a temperaturas cercanas a 115 °C trae como consecuencia la destrucción

**Cuadro 3. Contenido de aminoácidos esenciales (g/100 g de proteína) en la materia prima utilizada en la formulación de la galleta proteica.**

| Aminoácidos Esenciales | Plasma de Bovino | Harina de Trigo  |
|------------------------|------------------|------------------|
| His                    | 3.8 <sup>a</sup> | 1.8 <sup>b</sup> |
| Ile                    | 2.8 <sup>a</sup> | 3.4 <sup>a</sup> |
| Leu                    | 8.0 <sup>a</sup> | 6.5 <sup>a</sup> |
| Lis                    | 8.0 <sup>a</sup> | 2.5 <sup>b</sup> |
| Met + Cis              | 2.2 <sup>a</sup> | 4.3 <sup>b</sup> |
| Fen + Tir              | 7.2 <sup>a</sup> | 7.5 <sup>b</sup> |
| Tre                    | 6.2 <sup>a</sup> | 3.0 <sup>b</sup> |
| Val                    | 5.6 <sup>a</sup> | 4.4 <sup>a</sup> |

a, b: Medias en una misma línea con diferentes superíndices difieren significativamente ( $P < .05$ ).

parcial (modificación química irreversible de residuos de cisteína y cistina) y la formación de sulfuro de hidrógeno, dimetil sulfuro y ácido cisteico. Esas reacciones han sido observadas en carnes, pescados, leche y sistemas modelos de proteínas (14). Raimo *et al.* (10) reportaron que el efecto del tratamiento térmico (70 °C por 1 hora y 121 °C por 50 ó 60 minutos) sobre la composición de aminoácidos en comida de bebé enlatada no produjo cambios en la proporción porcentual de los aminoácidos esenciales en relación a

los aminoácidos totales

Las contradicciones observadas en los resultados reportados hasta el presente pudieran deberse a las diferencias existentes en cuanto a la temperatura, tiempo y tipo de muestra utilizada en los diferentes tratamientos aplicados. Los resultados obtenidos en esta investigación muestran que la temperatura utilizada no fue lo suficientemente elevada para causar algún cambio en los aminoácidos esenciales presentes en la galleta proteica.

**Cuadro 4. Contenido de aminoácidos esenciales (g/100 g de proteína) en la mezcla y en la galleta elaborada con plasma de bovino.**

| Aminoácidos Esenciales | Mezcla | Galleta |
|------------------------|--------|---------|
| His                    | 3.0    | 3.2     |
| Ile                    | 2.8    | 3.0     |
| Leu                    | 7.5    | 7.8     |
| Lis                    | 6.5    | 7.0     |
| Met + Cis              | 2.1    | 2.6     |
| Fen + Tir              | 8.0    | 8.1     |
| Tre                    | 3.8    | 4.0     |
| Val                    | 5.2    | 5.4     |

## Agradecimiento

Los autores desean expresar su agradecimiento al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico

(CONDES) por el financiamiento de este trabajo.

## Literatura citada

1. Alizo, M., y E. Márquez. 1994. Estudios sobre las formas de presentación de una galleta nutritiva a base de proteína de plasma sanguíneo de bovino para niños de edad escolar. *Revista Científica, FCV-LUZ*. 4:143-146.
2. AOAC. 1990. *Official Methods of Analysis*. Assoc. Official Analytical Chemists. Washington, D.C.
3. Barboza, Y., E. J. Márquez, B. Arias, J. Fariña, y O. Castejón. 1994. Utilización del plasma sanguíneo de bovino como

- f fuente proteica en la formulaci3n de un medio de cultivo para lactobacilos. Revista Científica. FCV-LUZ. 4:55-59.
4. Bourgeois, C. 1986. Evoluci3n del valor agregado de las proteÍnas de origen animal. En: C.M. Bourgeois y P. Le Roux (eds.). ProteÍnas animales. Edit. El Manual Moderno, M3xico. D.F. 1:4.
  5. Duncan, D. B. 1955. Multiple range and multiple F test. Biometrics. 11:1.
  6. M3rquez E., O. Ferrer, G. Torres, O. G3mez. 1994. Utilizaci3n del plasma sanguÍneo de bovino como fuente proteica en la formulaci3n de un producto tipo hojuela nutritiva. Archivo Latinoamericano de Nutrici3n. 44:72.
  7. M3rquez, E., P. Izquierdo, B. Arias, G. Torres. 1995. Efecto de la adici3n de plasma sanguÍneo de bovino sobre la estabilidad de la emulsi3n y contenido prot3ico de los productos c3rnicos emulsificados. Rev. Fac. Agron (LUZ). 12:511-522.
  8. Olson, F. 1970. Nutritional aspects of offal proteins. Amer. Meat Inst. Found. p.28.
  9. Pedersen, J. 1979. Utilization of animal blood in meat products. Food Technol. 33:176.
  10. Raimo, P.R., S.A. Pirjo, R.R. Linko. 1978. Effect of heat treatment on amino acid composition of canned baby food. (Abstract). J. Agric. Food. Chemistry. 26:158.
  11. Rangel, L., A. Archile, O. Castej3n, F. Izquierdo, E. M3rquez. 1995. Utilizaci3n de tripolifosfato como anticoagulante y su efecto sobre las propiedades emulsificantes del plasma. Revista Científica, FCV-LUZ. 2:111-116.
  12. Rusing, O. 1979. Evaluation of plasma and plasmaalginate fibres for use in sausages. Meat Sci. 3:295.
  13. SAS. 1985. SAS User's Guide: Statistics (5<sup>th</sup> ed). SAS Institute Inc., Carry N.C.
  14. Szulc, M., J. Szczawinski, Kiszczak. 1980. The effect of storage and heat treatment on amino acids content in meat. (Abstract). Annals. of Warsaw Agricultural University. SGGW. AR. Veterinary Medicine. 10:57-63.
  15. Young, C. R., R. W Lewis, W. A Landmann, C.W. Dill. 1973. Nutritive value of globin and plasma protein fractions from bovine blood. Nutr. Rep. International. 8:211.
  16. Tybor, P. 1973. The properties of protein isolates prepared from slaughter animal blood. Texas A&M. University.