

Evaluación de dos materias primas como fuente de proteína: pluma de pollo (*Gallus gallus*) y pezuña de vaca (*Bos primigenius taurus*)

Evaluation of two raw materials as source of protein: chicken (*Gallus gallus*)
feather and hoof of cow (*Bos primigenius taurus*)

COLCIENCIAS TIPO 1. ARTÍCULO ORIGINAL

RECIBIDO: NOVIEMBRE 13, 2014; ACEPTADO: DICIEMBRE 23, 2014

Ricardo Benítez Benítez
rbenitez@unicauca.edu.co

Brandon Rosero Lopez
brosero@unicauca.edu.co

Jaime Martin Franco
jmartinf@unicauca.edu.co

Departamento de Química, Universidad del Cauca, Popayán, Colombia

Resumen

Se realizó el análisis proximal en dos muestras, pezuña de vaca (*Bos primigenius taurus*) y pluma de pollo (*Gallus gallus*) con el objeto de establecer los componentes básicos que presentan y la probabilidad de ser utilizadas, a través de hidrólisis enzimática de proteínas, como fuente de queratina. Se siguió la metodología planteada en la edición 17 de «Official Methods of Analysis of AOAC International», con algunas modificaciones. Los resultados obtenidos indican que las dos muestras son una fuente promisoría de proteína debido al alto porcentaje que presentan de ella, 79,5131($\pm 0,0066$)% y 77,6981($\pm 0,5758$)%, para la pezuña y la pluma, respectivamente. Para el análisis estadístico se utilizó SPSS versión 15.0, ANOVA y posteriormente el test de Tukey, encontrando que existen diferencias significativas entre las muestras, para cada una de las determinaciones realizadas en el análisis composicional.

Palabras Clave

Análisis proximal; plumas de pollo, pezuña de vaca, composición química; extracción de proteína.

Abstract

Proximate analysis was performed on two samples cow's hoof (*Bos primigenius taurus*) and chicken feathers (*Gallus gallus*) in order to establish the basic components that present and the likelihood of their use by enzymatic hydrolysis of proteins, such as keratin source. The methodology proposed by the AOAC in its «Official Methods of Analysis of AOAC International» (Ed. 17th.), with minor modifications, was followed. The results indicate that the two samples are promising sources of protein due to the high percentage having the same, 79.5131 (± 0.0066) and 77.6981% (± 0.5758)% for the hoof and feather respectively. For statistical analysis SPSS version 15.0, ANOVA and subsequently Tukey's test was used, determining that there are significant differences between samples, for each of the determinations done in the compositional analysis.

Keywords

Proximate analysis; chemical composition; protein extraction.

Los autores expresan su agradecimiento al Departamento de Química de la Universidad del Cauca por brindar la infraestructura requerida para el desarrollo de esta investigación, la cual fue realizada en el marco de las actividades del Semillero del Grupo de Investigación en Química de Productos Naturales, adscrito a la Universidad del Cauca.

I. INTRODUCCIÓN

El análisis proximal es una herramienta muy utilizada para establecer la composición de diferentes materias primas, determinar las propiedades fisicoquímicas y posibilitar el uso más adecuado, a partir de los resultados obtenidos (He, Franco, & Zhang, 2013).

Existen muchos subproductos agroindustriales que se desechan generando contaminación, algunos, a pesar de ser fuente potencial de proteínas, con posibilidades de generar valor agregado por las aplicaciones, tanto industriales, como alimenticias, que ofrecen.

Es el caso de los hidrolizados de proteína, con propiedades fisicoquímicas deseables, que generan expectativa en la industria por su utilidad como agentes espumantes, emulgentes, detergentes y piensos para animales. En los últimos años, se han usado en la producción de geles y otras sustancias químicas (He, Franco, & Zhang, 2013; Juturu, & Wu, 2012).

Las plumas de pollo y las pezuñas de vaca se producen en grandes cantidades en las plantas de procesamiento, alcanzando millones de toneladas anuales a nivel mundial. En la mayor parte de casos, son identificados como subproductos inútiles (Fakhfakh, Ktari, Haddar, Mnif, Dahmen, & Nasri, 2011). Las plumas se caracterizan, principalmente, por ser una fuente importante de proteína y se emplean sobre todo en piensos para animales. En la actualidad existen industrias que producen harinas a partir de las plumas de pollo; ellas son deficientes en metionina e histidina, lo que limita su uso en la alimentación humana (Papadopoulos, El Boushy, Roodbeen, & Ketelaars, 1986).

El colágeno y la queratina son proteínas estructurales, el primero, se produce generalmente a partir de hueso de cerdo, cuyo proceso se complica por el bajo contenido de proteína, aproximadamente el 30%; mientras que, la queratina está presente en altos niveles en los cuernos y las pezuñas de vaca (Fakhfakh et al., 2011).

En este trabajo se compara el contenido de proteína de dos subproductos del procesamiento industrial de animales, con el propósito de generar un indicativo para el reciclaje de los desechos de ganado y de las plumas de pollo. Los resultados serán utilizados en otros estudios y en aplicaciones posteriores.

II. MÉTODO

A. Muestreo

Las muestras se reunieron de manera aleatoria y se empacaron al vacío, para garantizar el contenido de agua y reducir el deterioro causado por el oxígeno y los microorganismos.

B. Preparación de las muestras

A partir de 150,000 g de muestra de pluma de pollo y/o pezuña de vaca, se realizó un rallado manual y mecánico hasta obtener el pulverizado de las dos muestras. Se obtuvo 132,4720 g y 135,4678 g de muestra de pluma de pollo y pezuña de vaca respectivamente.

Una vez terminado el tratamiento de las muestras, se procedió a realizar los análisis por triplicado, mediante los métodos oficiales de la AOAC International (2013), con algunas modificaciones. Las metodologías utilizadas son descritas a continuación.

C. Análisis proximal

Determinación de humedad o sustancias volátiles (%H)

En una caja de Petri se pesó aproximadamente 20,0000 ($\pm 0,0001$)g de cada de muestra, usando una balanza analítica OHAUS AR2140 ($\pm 0,0001$ g); el material se distribuyó uniformemente en el recipiente y se calentó en el horno de secado BINDER ED 115 a una temperatura de 105 °C, durante 12 h. Las muestras se llevaron a temperatura ambiente en el desecador y se pesaron en varias oportunidades (AOAC, 2013), hasta obtener un peso constante.

El porcentaje de humedad (base húmeda) se determinó mediante la relación del peso promedio perdido de agua y el peso promedio de la muestra húmeda, relación que se expresa en la Ecuación 1.

$$\%Hh = \frac{Ph - Ps}{Ph} \times 100 \quad \text{Ec. 1}$$

donde,

$\%Hh$ = Porcentaje de humedad en base húmeda

Ph = Peso promedio de la muestra húmeda

Ps = Peso promedio de la muestra seca

El porcentaje en base seca se determinó mediante la relación del peso de agua perdida y el peso de la muestra seca, relación que se expresa en la Ecuación 2.

$$\%Hs = \frac{Ph-Ps}{Ps} \times 100 \quad \text{Ec. 2}$$

donde,

$\%Hs$ = Porcentaje de humedad en base seca

Ph = Peso promedio de la muestra húmeda

Ps = Peso promedio de la muestra seca

Determinación de cenizas o material mineral

Se calcinó con calentamiento progresivo hasta 550°C en el horno TERRIGENO D-8, 1,5000 ($\pm 0,0001$) g de muestra seca, hasta la obtención de cenizas grisáceas, aproximadamente, en 3 horas. Luego de este tiempo, cada muestra se trasladó al desecador y se llevó a temperatura ambiente (AOAC, 2013).

Se determinó el porcentaje de cenizas en base seca, a partir de la ecuación 3.

$$\%Cs = \frac{Pc}{Pms} \times 100 \quad \text{Ec. 3}$$

donde,

$\%Cs$ = Porcentaje de cenizas en base seca

Pc = Peso de las cenizas

Pms = Peso de la muestra seca

Determinación del extracto etéreo o grasa bruta

El material se lavó con NaOH 0,01 N y agua destilada; luego de secarlo, se pesó 10,0000 ($\pm 0,0001$) g de pezuña de vaca y 7,6000 ($\pm 0,0001$) g de plumas de pollo. Cada muestra se depositó en un cartucho de celulosa y se introdujo en un equipo Soxhlet para la extracción de la grasa bruta, a una temperatura de 39-55 °C, por un periodo de 7 horas. El contenido de grasa se calculó mediante la Ecuación 4.

$$\%G = \frac{Pg}{Pms} \times 100 \quad \text{Ec. 4}$$

donde,

$\%G$ = Porcentaje de grasa

Pg = Peso de la grasa

Pms = Peso de la muestra seca

Determinación de nitrógeno (Proteína)

Se pesó 0,8050 ($\pm 0,0001$) g de pezuña de vaca y 0,1120 ($\pm 0,0001$) g de plumas de pollo. A cada muestra se le adicionó 2,0000 ($\pm 0,0001$) g de pastilla Kjendal y se llevó a digestión con 10 mL de ácido sulfúrico concentrado durante 4 horas, hasta que las muestras quedaron transparentes.

Posteriormente, se enfriaron a temperatura ambiente y se realizaron diluciones con agua destilada (200 mL); paralelamente, se preparó 100 mL de una solución de H_3BO_3 al 4% con una solución del indicador de Tashiro. Se conectó el equipo BUCHI UNIDAD DE DESTILACION K-350 [7], adicionando NaOH al 30% en exceso; para la titulación del Borato de amonio se utilizó HCl 0,1099 N estandarizado (AOAC, 2013); paralelamente se analizó un blanco en las mismas condiciones del procedimiento anterior.

A partir de las ecuaciones 5 y 6 se determinó el contenido de proteína en porcentaje para cada muestra.

$$\%N = \frac{(VM-VB) \times N_{HCl} \times mEqN_2}{Pm} \times 100 \quad \text{Ec. 5}$$

Donde,

VM = Volumen de HCl consumido en la titulación

VB = Volumen del blanco

Pm = Peso de la muestra utilizada

$mEqN_2$ = Miliequivalentes de nitrógeno

N_{HCl} = Normalidad de HCl

Para el porcentaje de proteína se utilizó:

$$\%Pbs = \%N \times Factor \quad \text{Ec. 6}$$

Donde,

$\%Pbs$ = Porcentaje de proteína en base seca

$\%N$ = Porcentaje de nitrógeno en la muestra

$Factor$ = 6,25

Determinación de fibra bruta

Se pesó aproximadamente 2,0000 ($\pm 0,0001$) g para cada una de las muestras desengrasadas previamente; posteriormente, fueron transferidas a un balón de 250 mL. Paralelamente, se calentó una solución 0,313 N de NaOH y se adicionó a la muestra en reflujo. El calentamiento se mantuvo durante 3 horas con agitación contante, para

garantizar la hidrólisis total de los glúcidos. Luego se filtró con tela de dril y se adicionaron, a través de la tela, 500 mL de agua destilada caliente, hasta un pH neutro del filtrado. Posteriormente, el filtrado se vertió en un vaso de precipitados que contenía 25 mL de etanol; la mezcla se agitó con varilla de vidrio y se filtró nuevamente, sobre la misma tela de dril; el sólido con la tela se llevó a un crisol y se calentó en horno de secado BINDER 115 a una temperatura de 110°C durante 1 hora. Posteriormente, el precipitado se separó de la tela y se calentó en un crisol a 550°C durante 20 minutos; al cabo de este tiempo se dejó el crisol en un desecador durante 12 horas (Icontec, 1993). Los porcentajes de fibra se calcularon mediante la Ecuación 7.

$$\%Fbs = \frac{Pc}{Pmd} \times 100 \quad \text{Ec. 7}$$

donde,

$\%Fbs$ = Porcentaje de fibra en base seca

Pc = Peso de las cenizas

Pmd = Peso de la muestra desgrasada

Determinación de extracto no nitrogenado

En el extracto no nitrogenado se agrupan los nutrientes no evaluados directamente con los métodos señalados en la AOAC (2013); el extracto no nitrogenado está constituido principalmente por carbohidratos digeribles, vitaminas y demás compuestos orgánicos solubles no nitrogenados. Para la determinación del extracto no nitrogenado se utilizó la Ecuación 8.

$$\%ELN = 100 - (A + B + C + D + E) \quad \text{Ec.8}$$

donde,

A = % Humedad

B = % Cenizas

C = % Grasa

D = % Proteína

E = % Fibra

Estadística

El análisis estadístico de los resultados se realizó usando el software SPSS versión 15.0 para Windows (IBM, 2006). Mediante análisis de varianza ANOVA de un factor y las diferencias significativas entre ellas, fueron analizadas

a través del test de Tukey; se consideró $p \leq 0,05$ como estadísticamente significativo. Todas las determinaciones, al igual que el análisis estadístico, se realizaron por triplicado.

III. RESULTADOS

En la Tabla 1 se resumen los valores obtenidos experimentalmente para cada uno de los parámetros evaluados.

Tabla 1. Humedad, cenizas y grasa (%) en cada una de las muestras. Datos promedio (\pm desviación estándar) de determinaciones por triplicado

Análisis	Pezuña de vaca (%)	Plumas de pollo (%)
% Humedad	15,1846 ^a ($\pm 0,0038$)	4,8940 ^a ($\pm 0,0017$)
% Cenizas	6,0754 ^b ($\pm 0,0006$)	3,2756 ^b ($\pm 0,0012$)
% Grasa	5,7551 ^c ($\pm 0,0100$)	1,4030 ^c ($\pm 0,1425$)
% Proteína _{Bs}	79,5131 ^d ($\pm 0,0066$)	77,6981 ^d ($\pm 0,5758$)
% Fibra _{Bs}	6,4089 ^e ($\pm 0,0044$)	10,0489 ^e ($\pm 0,2732$)
% ELN	0,7916 ^f ($\pm 0,0014$)	6,3613 ^f ($\pm 0,5932$)

Bs. En base seca; letras diferentes en la misma columna, indican diferencias significativas ($p < 0,05$)

El porcentaje de humedad observado para las muestras denota grandes diferencias. Indica que la muestra de pezuña presenta una cantidad de agua en si misma, lo que conlleva a una mayor actividad acuosa y por tanto a ser perecedera, por lo que es necesario un control de factores tales como la temperatura de almacenamiento, el oxígeno atmosférico (O₂), las enzimas endógenas, la luz y, lo más importante, los microorganismos. Uno de los métodos más tradicionales es la disminución de la temperatura de la muestra a través de un refrigerador (Zhou, Xu, & Liu, 2010). Por su parte, la muestra de pluma de pollo posee un porcentaje de humedad mucho más bajo, sin embargo este debe ser controlado en caso de que vaya a ser empleada como materia prima, antes de llevarla a procesos de almacenamiento.

Estadísticamente, el contenido de cenizas presenta variación significativa ($p=0,001$), esta discrepancia se produce porque las muestras son totalmente diferentes. La muestra de pezuña de vaca posee una contextura rígida y robusta, capaz de brindar protección contra lesiones mecánicas exteriores (Phillips, Patterson, Ap-Dewi, & Whitaker, 1996), mientras que las plumas de pollo son más flexibles y únicamente permiten una regulación de la temperatura corporal. Este hecho implica una composición

diferente. Posiblemente el alto contenido de minerales (%Cs) en la muestra de pezuña de vaca permite las características mencionadas.

Para el porcentaje de grasa, los resultados establecen variación significativa ($p=0,001$). Se encuentra que todas las muestras difieren entre sí. Durante el tratamiento de las muestras fue evidente que la muestra de pezuña de vaca contenía una porción de lípidos, algo que en la de pluma de pollo no fue fácilmente observable. Se obtuvo que la muestra de pezuña de vaca posee aproximadamente cuatro veces más lípidos que la de pluma de pollo (ver Tabla 1).

El tratamiento estadístico muestra diferencias significativas para el contenido de proteína entre las diferentes muestras. No se observa una diferencia considerable en el contenido de proteína, aproximadamente 2%, entre las muestras.

Este alto contenido de proteína en ambas muestras hace que tengan gran aplicabilidad en diferentes industrias. Actualmente una de sus principales aplicaciones es la alimentación animal, ya que la producción de piensos con estas materias primas conlleva grandes ahorros económicos. Las plumas de pollo poseen las características necesarias para hacer parte de la alimentación animal. De ellas se destaca su poder antioxidante, propiedad que se puede evaluar mediante en ensayos *in vitro* con 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) (Fakhfakh et al., 2011).

Otra aplicación destacada es el uso de pluma de pollo como fuente natural de aminoácidos activos, utilizados como adsorbentes regenerables para la eliminación de calcio, magnesio, hierro y manganeso de aguas industriales (Sayed, Saleh, & Hasan, 2005).

Una de las aplicaciones más importantes –y más estudiadas– es la extracción de queratina, el componente principal de las plumas de pollo, una proteína estructural caracterizada por un alto contenido de cistina y una significativa cantidad de aminoácidos hidroxilo, especialmente serina (aproximadamente 15%) (Wang & Cao, 2012).

Los resultados de ANOVA muestran que existen diferencias significativas ($p\leq 0,05$) para el porcentaje de fibra cruda entre las muestras, el cual fue mayoritario en las plumas de pollo. Entre otros oligosacáridos presentes en la fibra están las xilanasas, las cuales se han utilizado en campos tradicionales, como las industrias alimenticia y de generación de papel (Juturu & Wu, 2012).

Determinadas las variables que permiten completar el análisis proximal, se calculó el extracto no nitrogenado [ELN]. Como se observa en la Tabla 1 se obtuvo mayor porcentaje en la plumas de pollo, lo que es evidente debido al alto contenido de carbohidratos totales de esta muestra.

IV. CONCLUSIONES

El análisis proximal de las muestras estudiadas permitió establecer que ambas aportan, aproximadamente, el mismo porcentaje de proteína. Sin embargo, debido a las diferencias en los otros parámetros, se puede afirmar que la muestra de pluma de pollo posee una mayor aplicabilidad en la industria alimenticia, especialmente en la producción de pienso para animales. La pezuña de vaca puede utilizarse como materia prima para extraer queratina debido a que su tratamiento es mucho más sencillo y mucho más rápido.

Cabe resaltar que las dos materias primas, por la disparidad en sus composiciones, pueden emplearse en diferentes aplicaciones, con dependencia directa de la composición de las muestras estudiadas.

V. REFERENCIAS

- Association of Official Analytical Chemists [AOAC]., W. Horwitz [Ed]. (2003). *Official Methods of Analysis of AOAC International* (17th ed.). Gaithersburg, MD: AOAC
- Buchi. (2014). Distillation Unit K-350 / K-355 [online]. Recuperado de <http://www.buchi.com/en/products/kjeldahl-dumas/distillation-unit-k-350-k-355>
- Fakhfakh, N., Ktari, N., Haddar, A., Mnif, I. H., Dahmen, I., & Nasri, M. (2011). Total solubilisation of the chicken feathers by fermentation with a keratinolytic bacterium, *Bacillus pumilus* A1, and the production of protein hydrolysate with high antioxidative activity. *Process Biochemistry*, 46(9), 1731-1737.
- He, S., Franco, C., & Zhang, W. (2013). Functions, applications and production of protein hydrolysates from fish processing co-products (FPCP). *Food Research International*, 50(1), 289-297.
- IBM (2006). *SPSS para Windows (v. 15.0)* [programa para computador]. US: IBM.
- Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación [ICONTEC]. (1993). NTC 668. Alimentos y materias primas: determinación de los contenidos de grasa y fibra cruda. Bogotá, Colombia: Icontec.
- Juturu, V., & Wu, J. C. (2012). Microbial xylanases: engineering, production and industrial applications. *Biotechnology advances*, 30(6), 1219-1227.
- Papadopoulos, M. C., El Boushy, A. R., Roodbeen, A. E., & Ketelaars, E. H. (1986). Effects of processing time and moisture content on amino acid composition and nitrogen characteristics of

feather meal. *Animal Feed Science and Technology*, 14(3), 279-290.

Phillips, C. J. C., Patterson, S. J., Ap Dewi, I., & Whitaker, C. J. (1996). Volume assessment of the bovine hoof. *Research in veterinary science*, 61(2), 125-128.

Sayed, S. A., Saleh, S. M., & Hasan, E. E. (2005). Removal of some polluting metals from industrial water using chicken feathers. *Desalination*, 181(1), 243-255.

Wang, Y. X., & Cao, X. J. (2012). Extracting keratin from chicken feathers by using a hydrophobic ionic liquid. *Process Biochemistry*, 47(5), 896-899.

Zhou, G. H., Xu, X. L., & Liu, Y. (2010). Preservation technologies for fresh meat—A review. *Meat science*, 86(1), 119-128.

CURRÍCULOS

Ricardo Benítez Benítez, Ph.D. Licenciado en Bioquímica y Magíster en Química de la Universidad del Valle (Cali, Colombia); Doctor en Enzimología de la Universitat de Lleida (Lleida, España). Profesor titular de la Universidad del Cauca e investigador del Grupo de Química de Productos Naturales.

Jaime Martín Franco, Ph.D. Licenciado en Educación, con especialidad en Biología y Química de la Universidad Santiago de Cali (1976). Doctor en Ciencias con énfasis en Química. Profesor titular de la Universidad del Cauca e investigador del Grupo de Química de Productos Naturales.

Brandon Rosero López. Estudiante del Programa de Química de la Universidad del Cauca, Miembro del Semillero del Grupo de Investigación en Química de Productos Naturales.