

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA



**CUANTIFICACION DEL CONTENIDO DE PROTEINA TOTAL
EN EL BAGAZO DE LA NARANJA VALENCIA (*Citrus sinensis*)
AL SER ENRIQUECIDA CON EL *Aspergillus niger*.**

TRABAJO DE GRADUACIÓN PRESENTADO POR:

**CLAUDIA ARELY MATA CASTANEDA
EDWIN EDGARDO MELARA ESCAMILLA
RHINA STELLA RODRÍGUEZ ROMERO**

**PARA OPTAR AL GRADO DE:
LICENCIADO EN QUÍMICA Y FARMACIA**

ABRIL DEL 2003



© 2001, DERECHOS RESERVADOS

**Prohibida la reproducción total o parcial de este documento,
sin la autorización escrita de la Universidad de El Salvador**

SISTEMA BIBLIOTECARIO, UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

Rector

Dra. María Isabel Rodríguez

Secretario General

Lic. Lidia Margarita Muños Vega

Facultad de Química y Farmacia

Decano

Lic. María Isabel Ramos de Rodas

Secretario

Lic. Ana Arely Cáceres Magaña

Coordinadora General

Lic. María C. Odette Rauda Acevedo

Coordinador de Area de Aprovechamiento de Recursos Naturales

Msc. Armando Nelson Genovez Leonor

Docente Director

Ing. Sergio Armando Maravilla

Docente Director

Lic. Miriam del Carmen Ramos de Aguilar

DEDICATORIAS

DEDICO ESTE TRABAJO DE GRADUACIÓN:

A DIOS PADRE : Por darme la oportunidad de haber terminado mi carrera y estar conmigo en todos los momentos que necesite de su ayuda.

A MIS PADRES : Por estar apoyándome en todo momento, por sus consejos que han sido tan valiosos en mi vida, gracias a ellos por el amor incondicional y la confianza que me han depositado, por sus esfuerzos realizados para que cumpla mi sueño. A mi hermano y familia por darme su apoyo y comprensión.

A MIS AMIGOS DE TESIS : Rhina Stella Rodríguez Romero y Edwin Edgardo Melara Escamilla, por haberme brindado su amistad, apoyo emocional y por su comprensión en momentos difíciles. Que el Señor los bendiga a ustedes y a sus familias también, y que los prospere en sus metas. Para mí fue un gusto trabajar con ustedes.

Claudia Arely Mata Castaneda.

A DIOS todopoderoso, y a la **VIRGEN DE GUADALUPE**, por haber sido mi fortaleza y refugio para no desfallecer en los momentos difíciles de mi carrera.

A MI MADRE, Lidia Antonia de Melara, por ser una excelente madre y por todo su sacrificio y comprensión.

A MI PADRE, Ricardo Antonio Melara, por su confianza y apoyo en todo momento de mi carrera.

A MIS HERMANOS, Ricardo Ernesto y Riquely Adonay Melara Escamilla, por los momentos gratos que me brindaron durante mi carrera.

A MI AMIGA, Karla Marina Martines Burgos por el cariño y colaboración brindados en todo momento.

A MIS COMPAÑERAS TESIS, Rhina Stella Rodríguez Romero y Claudia Arely Mata Castaneda, por todos los momentos que vivimos durante el proceso de graduación para lograr el objetivo deseado.

Edwin Edgardo Melara Escamilla.

A DIOS PADRE : Por que fue El quien me sostuvo y me ayudo en los momentos dificiles, regalándome al mismo tiempo momentos gratos e inolvidables; pero sobre todo por que El se merece toda la Honra y la Gloria.

A MIS PADRES : Antonio Eugenio Rodríguez Guerrero y Rhina Estela Romero de Rodríguez : Quienes fueron tan comprensivos y amorosos durante toda mi carrera, a ellos les debo no solo un titulo sino una amistad que me sostiene en cada momento de mi vida.

A MIS HERMANAS : Tania de Segura y Xiomara Rodríguez mis dos mejores amigas, que son una inspiración y la mejor compañía que Dios me pudo regalar para atravesar las situaciones más adversas y gratas de mi vida.

A MIS COMPAÑEROS DE TESIS : Claudia Arely Mata y Edwin Edgardo Melara por el apoyo y la amistad que me brindaron durante toda la carrera. Dios los bendiga.

Rhina Stella Rodríguez Romero.

AGRADECIMIENTOS

A DIOS: Por habernos dado sabiduría durante toda nuestra carrera y por que sus cuidados estuvieron con nosotros en cada momento difícil. Gracias porque nos permitió finalizar una etapa más de nuestra vida.

A NUESTROS PADRES: Por apoyarnos y comprendernos incondicionalmente. Les agradecemos sus sacrificios y la confianza que nos brindaron durante nuestros estudios superiores.

A NUESTROS ASESORES : Ing. Sergio Maravilla y la Lic. Miriam de Aguilar por ser una guía y soporte durante el desarrollo del trabajo de graduación. Por el tiempo que nos brindaron y la amistad que estrechamos.

A NUESTROS AMIGOS : Por comprender que este espacio no es suficiente para escribir sus nombres, pero los recordamos a cada uno por su sinceridad y por los momentos que pasamos juntos dentro y fuera del campus universitario.

Fíate de Jehová de todo tu corazón,
Y no te apoyes en tu propia prudencia.
Reconócelo en todos tus caminos,
Y él enderezará tus veredas.
No seas sabio en tu propia opinión;
Teme a Jehová, y apártate del mal;
Proverbios 3: 5-7.

Claudia Arely Mata Castaneda.

Edwin Edgardo Melara Escamilla.

Rhina Stella Rodríguez Romero.

INDICE

I. Introducción	
II. Objetivos	3
III. Marco Teórico	4
IV. Diseño Metodológico (Materiales y Métodos).	12
V. Resultados.....	28
VI. Discusión de Resultados	39
VII. Conclusiones	41
VIII. Recomendaciones	42
Bibliografía	
Anexos	

I. INTRODUCCIÓN

El Salvador, es un país cuya población no llena a plenitud sus necesidades nutricionales. La alimentación en el país por lo general no es balanceada en proteínas; tomando en cuenta el agotamiento de los recursos naturales y el aumento de la población, se vuelve necesario buscar formas alternativas de suplir esta necesidad a bajo costo.

En diferentes países se vienen estudiando materias primas no convencionales, y nuevas fuentes de alimentos, una de ellas es la gran cantidad de residuos frutales, que no tienen ninguna utilidad y son desechos agroindustriales. Los desechos de las frutas cítricas que se utilizan para la obtención de jugos, como la naranja, no son aprovechados, siendo considerados desperdicios, que se convierten en contaminación ambiental. Los residuos de naranja pueden ser aprovechados como materia prima al aumentársele su valor proteínico.

Ante esta situación la biotecnología ha desarrollado una serie de procedimientos que permiten realizar un tratamiento biológico a los desechos de frutas con microorganismos, en diferentes sustratos orgánicos, con el fin de producir la denominada bioproteína o proteína unicelular, entendiéndose por ella a los microorganismos tales como bacterias, levaduras, algas u hongos filamentosos que son utilizadas como alimento de alto valor proteico y como complemento en la alimentación de aves, cerdos y otros animales de granja.

El *Aspergillus niger*, tiene la propiedad de enriquecer el valor proteínico del vagazo de la naranja, transformándolo en materia prima para concentrados de animales de granja, ya que ofrece buenas condiciones tanto de pH como de

composición química, siendo una opción que favorecería el área agrícola, además de brindar un beneficio económico. Esto ayudaría a disminuir los costos de importación que actualmente realiza el país y al mismo tiempo disminuir la fuga de divisas.

Con el uso de estos productos se atenuarían los problemas de contaminación ambiental en que se convierten estos desechos.

Para el desarrollo de la investigación se seleccionó la Naranja Valencia (*Citrus sinensis*), por ser la variedad que más abunda en el país y la de menor costo con respecto a otras variedades, el muestreo fue proveniente de cuatro diferentes mercados los cuales son: Mercado La Tiendona de San Salvador, Mercado Municipal de Apopa, Mercado Central de San Salvador y La Finca "San Alejo" en Cojutepeque.

II. OBJETIVOS

1.0 OBJETIVO GENERAL:

Cuantificar el contenido de proteína total en el bagazo de la naranja Valencia (*Citrus sinensis*) al ser enriquecido con el *Aspergillus niger*.

2.0 OBJETIVOS ESPECIFICOS:

- 2.1 Determinar cual de los dos métodos de secado del bagazo de la naranja ofrece mayor crecimiento de la proteína total, para una posterior aplicación a nivel industrial.
- 2.2 Realizar los análisis de pH, humedad, cenizas y proteína total a las muestras de bagazo de naranja, procedentes del Mercado Central de San Salvador, Finca San Alejo en Cojutepeque, Mercado Municipal de Apopa, Mercado la Tiendona de San Salvador, tanto a la materia seca sin tratar como al producto final obtenido.
- 2.3 Cuantificar la proteína total del bagazo de las naranjas procesadas por los métodos A y B, para establecer cual de ellos tiene mayor porcentaje de la misma.

III. MARCO TEORICO

“Las propiedades nutritivas, vitamínicas y terapéuticas de la naranja, sumadas a sus agradables características sensoriales, la convierten en una de las frutas más apetecidas. Esto ha contribuido a incrementar la producción industrial de su jugo, sin embargo, el 50% de la fruta tratada para la extracción industrial del jugo de naranja se convierte en desecho”.¹⁰

“Por ello se han realizado investigaciones para darle aplicabilidad y valor agregado a estos desechos. Uno de los campos donde ha tenido mayor auge ha sido en la alimentación de animales de granja, sobre todo porque las proteínas son las más difíciles de suplir”.¹²

Debido a esto, se han hecho investigaciones para establecer cual es la fuente de proteína mas adecuada y rentable que pueda ser utilizada para este fin, conociéndose que las proteínas se dividen en dos clases: de origen animal y de origen vegetal.³

Las proteínas de origen animal y de origen vegetal mas utilizadas en la alimentación de animales de granja se describen a continuación.

a) PROTEINAS DE ORIGEN ANIMAL

HARINA DE PESCADO:

“El contenido de proteína varia, según la especie de procedencia y el método de producción, aunque por lo general es superior al 55%. Una característica de esta harina es su calidad; es rica en aminoácidos esenciales, sobre todo en Lisina, Metionina y Triptófano, considerados críticos al balancear raciones para aves”.³

“Los niveles usados debido a sus costos y disponibilidad son del 2 al 7% y por la posibilidad de transmitir olor y sabor a los productos avícolas no se usa más del 10%”.³

HARINA DE CARNE Y HUESO:

“El contenido de estas harinas en cuanto a proteína varía del 45 al 50%. Otra característica es el alto contenido de grasa que es aproximadamente el 9%. Estas harinas constituyen una fuente excelente de calcio y fósforo aprovechable”.³

“Su proteína es de buena calidad, destacando su riqueza en Lisina y sin embargo, la proteína es deficiente en Metionina y Triptófano que son los aminoácidos limitantes. Por razones de precio y disponibilidad, su empleo es a niveles bajos en las dietas”.³

HARINA DE PLUMAS:

“La harina de plumas hidrolizada contiene un alto nivel de proteína (85%) y su precio en el mercado es bajo en relación con otras fuentes de nitrógeno. Sin embargo su digestibilidad es baja y carente en aminoácidos como la Metionina, Lisina, Histidina y Triptófano lo cual limita su uso en raciones para aves de 3 a 4% como máximo”.³

HARINA DE SANGRE:

“Contiene alrededor de 80% de proteína. La proteína es de baja calidad por estar mal balanceada. Es limitante en Isoleucina y Metionina, pero posee alto contenido de Lisina. Su empleo se restringe de 2 a 3% en las dietas”.³

“La harina de sangre a pesar de su riqueza proteica, sólo tiene una eficacia limitada debido al antagonismo Leucina – Isoleucina. Si esta harina se constituye más del 10% de la dieta tienden a producir diarrea, cuando se usa en sustitución de harina de pescado es necesario añadir calcio y fósforo”.³

b) PROTEINAS DE ORIGEN VEGETAL:

PASTA DE SOYA:

“La pasta de soya procesada es una de las mejores fuentes protéicas de origen vegetal para la alimentación de aves, posee un alto contenido de Lisina. La proteína contiene todos los aminoácidos esenciales, pero las cantidades de Cistina y Metionina están al nivel sub-óptimo o deficientes. Su contenido de proteína fluctúa entre 43 y 45%”.³

“La soya posee un inhibidor que es la tripsina que reduce el valor de la proteína ya que disminuye la digestión peptida, pero esta se destruye con el calor”.³

La importación de este producto incrementa su precio y obliga al formulador de raciones a usar otros productos que reduzcan costos de alimentación.³

PASTA DE ALGODÓN:

“Proporciona proteína de buena calidad pero es deficiente en Metionina y Lisina, antes su uso se restringía por su contenido de gossipol que es un pigmento presente en la semilla de algodón, que en grandes cantidades puede causar problemas de crecimiento en los pollos y en las gallinas de postura. El contenido de proteína varía de 40 a 45%”.³

GLUTEN DE MAIZ:

“Es un subproducto de la obtención de almidón y glucosa del maíz, se caracteriza por ser fuente rica en proteína (42%). Sin embargo es de mala calidad, pues es deficiente en Lisina y Triptófano, aunque es rica en Metionina; se usa en las dietas de aves en niveles de 2 al 3% en raciones para pollo de engorde”.³

“La proteína animal es superior a la de origen vegetal, debido a su alto contenido de aminoácidos esenciales, minerales y el aporte de vitaminas del complejo B; sin embargo si las proteínas de origen vegetal se procesan en forma adecuada y se complementan con aminoácidos esenciales, minerales y vitaminas, su valor nutritivo será similar al de las proteínas de origen animal”.³

Hoy en día una forma de procesar adecuadamente la proteína de origen vegetal es empleando microorganismos, tales como los hongos filamentosos, los cuales son usados para obtener una proteína unicelular y una gran cantidad de enzimas que al mismo tiempo metabolizan mezclas complejas de compuestos orgánicos ya existentes en la mayoría de desechos agrícolas y agroindustriales. Además contienen un alto valor proteínico, similar al de alimentos tradicionales como la soya, el pescado, los huevos o la carne.

“Debido a las características que presentan los microorganismos, se ha trabajado con un microhongo llamado *Aspergillus niger* que por su fácil manejo, buen contenido proteico (por ser rico en aminoácidos como la Isoleucina, Fenilamina, Leucina, Tirosina, Cisteina, Treonina, Valina, Triptófano y Licina.) y nula toxicidad sirve para procesar desechos de naranja, constituyendo un buen recurso alimenticio”.¹³

“Una de las variedades más aprovechadas de naranja es la Valencia (*Citrus sinensis*) por su fácil adaptación a distintas condiciones climáticas, su acidez y su poca semilla. Además, los desechos que se generan en su procesamiento tienen un bajo pH y una composición adecuada para el crecimiento de hongos y levaduras”.¹⁰

“Los residuos de naranja tienen de un 6% a un 7% de proteína; con el microorganismo, *Aspergillus niger*, que crece a expensas de las fuentes de carbono de ese material, aumentando su contenido proteico a 20% ó 22%. Esto permite utilizarlo como materia prima para concentrados de animales”.¹⁰

Uno de los inconvenientes que presenta la proteína unicelular en la introducción como alimento para el hombre, es el alto contenido de ácidos nucleicos, puesto que su producto final en el metabolismo, es el ácido úrico, el cual es poco soluble en la sangre y orina y su exceso de concentración produce precipitación en los tejidos, articulaciones, vejiga y riñones, con repercusiones negativas para la salud (gota úrica, cálculos biliares, cálculos de riñón).

“En el caso de los animales (carneros, cerdos, aves de corral y vacas) que son utilizados como fuente proteínica para el hombre, el sistema metabólico posee la enzima urato-oxidasa que permite la degradación del ácido úrico a alantoína, un metabolito sin riesgos y fácilmente excretable. En consecuencia, la utilización de la proteína unicelular como complemento alimenticio en los animales no presenta riesgos”.¹⁰

APLICACIÓN INDUSTRIAL.

Una de las aplicaciones a nivel industrial de la bioproteína, es en la alimentación de aves de corral.

La carne de pollo es una de las más consumidas en el país; por ello es importante conocer las necesidades nutricionales de estos, siendo necesario realizar un balance de proteínas, grasas, minerales, carbohidratos y vitaminas durante el período de crecimiento para obtener un producto de calidad.

“Las necesidades proteicas en el curso de crecimiento de los pollos no son constantes; varían desde el nacimiento a la madurez, decreciendo su capacidad de asimilación de los prótidos. Los pollos al iniciar el consumo del alimento deben tener un porcentaje de proteína en la ración muy elevado (20-25%) y de la segunda a la sexta semana el óptimo de proteína oscila entre (18-19%)”.¹⁰

“El nivel de proteínas no deberá bajar del 20%, ni ser superior al 22%. No hay ventaja alguna en un porcentaje más elevado y sólo aumentaría el costo”.¹⁰

“Los niveles proteicos de las raciones de las aves deben mantenerse cerca del requisito mínimo; por ser este el componente más caro de la ración; una vez se da la cantidad mínima de proteína necesaria para alcanzar un máximo en el crecimiento, la proteína adicional se oxida para producir energía ya que el organismo no almacena grandes cantidades de proteínas”.¹⁰

BENEFICIO PARA LA INDUSTRIA.

“Actualmente existen plantas industriales para producir proteína unicelular en países tales como: Inglaterra, Estados Unidos, Finlandia, Antigua Unión Soviética, Alemania, Cuba, Suecia y Suiza. El destino de la proteína unicelular depende de las necesidades de cada país”.¹⁰

Generalmente se pretende sustituir la harina de soya, la cual es un concentrado proteico importante para la formulación de alimentos balanceados para animales presentando desventaja en cuanto a su costo, siendo materia prima de importación.

“Si la sociedad desea convertirse en una comunidad sostenible, en la cual se garantice no sólo la competitividad de sus industrias sino también la provisión del bienestar material para las futuras generaciones, se requiere un enfoque innovador que identifique nuevos procesos en el uso de productos de desechos. El aprovechamiento de desechos de naranja para aumentar el valor proteínico de los concentrados animales es una opción que beneficiaría a la industria alimenticia y agrícola del país, porque mejoraría la rentabilidad del proceso y además, contribuye a atenuar los problemas de contaminación ambiental”.¹⁰

ASPECTOS GENERALES DEL *Aspergillus niger*.

“Las colonias maduras de *Aspergillus niger* tienen consistencia aterciopelada y color parduzco negro, las cabezas esporales son grandes, muy próximas unas a otras de forma esférica”.²

“El *Aspergillus niger* excreta enzimas digestivas que les permite crecer en cualquier sustrato que contenga sustancia orgánica; tales como animales, plantas y el hombre. Los hongos presentan una actividad metabólica la cual permite que se genere energía que es empleada en la síntesis de proteína, polisacáridos y lípidos. Los productos accesorios del metabolismo de mohos incluyen: ácido cítrico, oxálico, glucónico, glucólico y otros”.²

“El medio húmedo facilita el crecimiento de los hongos, las especies que frecuentemente aparecen en pan, cítricos y leche lo hacen aun pH de 2.2 a 9.6,

aunque el pH de 5 a 6 es el más favorable. Los nutrimentos que hacen posible el crecimiento de estos organismos son cantidades ínfimas de impurezas en las soluciones ácidas, la predilección de los hongos por los ácidos explica la descomposición que se observa con tanta frecuencia en frutas ácidas y conservas".²

El organismo muere en cualquier temperatura superior a la máxima para crecimiento y la aceleración de muerte es mayor a medida que se eleva la temperatura. Prácticamente todos los hongos son destruidos en términos de 5 a 30 minutos a temperaturas de 60 a 63 grados.²

IV. DISEÑO METODOLOGICO

Siendo el tipo de estudio **retrospectivo – prospectivo**.

El estudio retrospectivo es “aquel en el cual se realiza una medición actual y se compara con datos obtenidos en el pasado”; siendo el prospectivo un “estudio basado en datos actuales los cuales se analizan en un tiempo determinado”.¹¹

El diseño metodológico es **analítico-experimental**.

Se entiende por estudio analítico-experimental “cuando una investigación trata con datos y se esperan de ella resultados matemáticamente interpretables, los cuales conducen a conclusiones causales más claras y pueden diseñarse o desarrollarse instrumentos para medirlos, que al mismo tiempo permita explicar los fenómenos o problema social que esta siendo estudiado”.⁴

ANALÍTICO-EXPERIMENTAL

Este se subdivide en:

- A) Investigación Bibliográfica
- B) Investigación de Campo
- C) Investigación de Laboratorio

A) INVESTIGACIÓN BIBLIOGRAFICA:

Esta documentación se realizó en las bibliotecas de la Facultades de Ciencias Naturales y Matemáticas, Ciencias Agronómicas y Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador, realizándose al mismo tiempo consultas en Internet.

B) INVESTIGACIÓN DE CAMPO:

1. UNIVERSO Y MUESTRA

Se escogió como universo la naranja Valencia (*Citrus sinensis*), tomándose las muestras de cuatro diferentes procedencias.

Las procedencias de las muestras son:

- ❖ Procedencia 1: Mercado Central de San Salvador
- ❖ Procedencia 2: Finca San Alejo en Cojutepeque
- ❖ Procedencia 3: Mercado Municipal de Apopa
- ❖ Procedencia 4: Mercado La Tiendona de San Salvador

Estas muestras se recolectaron en la misma época, seleccionando aquellas del mismo tamaño y color.

2. ESTUDIO ESTADÍSTICO¹

El tipo de estudio estadístico que se empleó en el trabajo fue: PRUEBA PARA LA DIFERENCIA DE MEDIAS DE DOS POBLACIONES REALACIONADAS, debido a:

- Permite comparar muestras diferentes, mientras sean de la misma variedad.
- Con este estudio se logrará establecer cuál método de secado es el más recomendado para obtener mayor rendimiento proteínico.

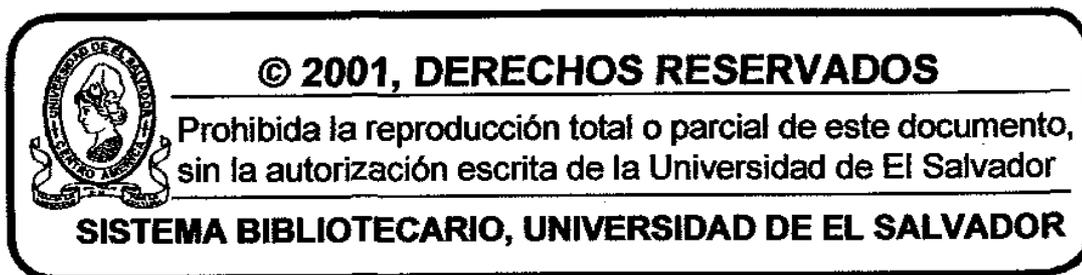
“Para esta prueba se analiza la diferencia entre las medias de dos grupos cuando se obtiene una información muestral de poblaciones relacionadas, es decir los resultados del primer grupo no son independiente de los del segundo grupo”.¹

“Esta característica de dependencia de los dos grupos se debe a que las muestras (para este caso el bagazo de naranja) están conjuntados o apareados de acuerdo a alguna característica, o porque se obtienen mediciones repetidas del mismo grupo de muestras”.¹

“El primer enfoque al problema de muestras relacionadas incluye el conjuntar o aparear las muestras de acuerdo a alguna característica de interés.

El segundo enfoque a los problemas de muestras relacionadas implica tomar mediciones repetidas de las mismas muestras.”¹

“Independientemente de si se utilizan muestra conjuntas (pareadas) o se toman mediciones repetidas, el objetivo es estudiar la diferencia entre dos mediciones al reducir el efecto de la variabilidad debida a las propias muestras”.¹



FÓRMULAS A UTILIZAR:

$$t_{n-1} = \frac{\bar{D} - \mu_D}{\frac{S_D}{\sqrt{n}}} \quad (\text{Formula 1})^1$$

Donde:

$n - 1$ = Grados de libertad

D = Diferencia promedio

S_D = Desviación estándar de la diferencia

μ_D = Diferencia hipotética

$$\bar{D} = \frac{\sum_{i=1}^n D_i}{n} \quad (\text{Fórmula 2})^1$$

Donde:

D_i = Diferencia entre valores del grupo uno y dos

$$S_D^2 = \frac{\sum_{i=1}^n D_i^2 - \frac{\left(\sum_{i=1}^n D_i\right)^2}{n}}{n-1} \quad (\text{Fórmula 3})^1$$

3. PLANTEAMIENTO DE HIPÓTESIS:

Ho : El porcentaje promedio de proteína total obtenida, utilizando el método de secado A es igual al obtenido por el método B.

$$H_0 : \mu_D = 0$$

Ha : El porcentaje promedio de proteína total obtenida, utilizando el método de secado A es diferente al obtenido por el método B.

$$H_a : \mu_D \neq 0$$

C) INVESTIGACIÓN DE LABORATORIO:

MATERIALES Y CRISTALERIA

- Balde de Acero Inoxidable
- Mechero Fisher- Price
- Tripode
- Paleta de Madera
- Pinza para Crisol
- Pinza para Mufla
- Espátulas
- Asa Metálica
- Cajas de Plástico con Tapadera
- Bandejas de Aluminio
- Tabla de Asbesto
- Beaker de 1000 ml

- Beaker de 100 ml
- Beaker de 50ml
- Probetas de 100ml
- Tubos de ensayo.
- Pipetas de 25.0 ml
- Agitadores
- Crisoles

EQUIPO

- Balanza Semianalítica Mettler PN1210 Max. 1200g
- Balanza Analítica Mettler H78 AR
- Balanza Granataria Triple Beam (OHA USA) 610g
- Estufa Precision Specific modelo 25 EG 65-210 UL OVEN
- Mufla
- Desecador Metálico W.H. Curtin y CO.
- Desecador de Vidrio Pirex TM USA PAT
- Molino de Martillo Thomas Wiley Laboratory Modelo 4 Thomas Scientific USA.
- Esterilizador Deuts Neuman 1000 Berlin10
- pHmetro

REACTIVOS Y SOLVENTES

- Nitrato de Amonio
- Fosfato Potásico Monobásico
- Sulfato de Magnesio

- Caldo de Dextrosa Saboraud
- Inoculo de *Aspergillus niger*
- Alcohol Isopropílico
- Agua Destilada

MATERIA PRIMA

- Bagazos de Naranja Valencia (*Citrus sinensis*)

1. PROCEDIMIENTOS REALIZADOS:

Las muestras de naranja recolectadas al azar en los lugares respectivos se trataron de la siguiente forma:

1.1 METODOS DE SECADO DE LAS MUESTRAS:

METODO A. (Método Amargo)

Para este método los pasos a seguir fueron:

1. Lavar las naranjas con agua y jabón, para eliminar residuos de polvo basura u otras partículas.
2. Remover el epicarpo
3. Cortar las naranjas en forma transversal y exprimir el jugo en forma manual.
4. Recolectar el residuo de la expresión del jugo y colocarlo en una hoja de papel kraft durante 20 minutos.
5. Extender el epicarpo sobre una hoja de papel kraft e introducirla en una estufa junto con el paso 4, a 80 °C por 60 minutos.

6. Triturar el material seco obtenido de los pasos 3 y 5 en un molino de aspas, hasta obtener un polvo fino.
7. Tamizar el polvo obtenido, hasta obtener un polvo fino, el cuál se denominará Bagazo de Naranja Procesada A, y dependiendo de su procedencia se identificaron como A₁, A₂, A₃, A₄, A₅, A₆, A₇, A₈.

METODO B. (Método Desamargado)

Para este método los pasos a seguir fueron:

1. Lavar las naranjas con agua y jabón, para eliminar residuos de polvo basura u otras partículas.
2. Remover el epicarpo, el cual se transfirió a un recipiente con agua hirviendo durante 2 horas, para eliminarles el sabor amargo.
3. Escurrir el epicarpo y colocarlo sobre una hoja de papel kraft. Durante 20 minutos.
4. Cortar las naranjas en forma transversal y luego exprimir el jugo de forma manual.
5. Recolectar el residuo de la expresión del jugo y colocarlo en una hoja de papel kraft durante 20 minutos.
6. Introducir (3) en una estufa a 80 °C durante 30 minutos.
7. Introducir (5) en una estufa a 80 °C durante 60 minutos.
8. Triturar en molino de martillo, la materia seca de los pasos 6 y 7, hasta obtener un polvo fino el cuál será tamizado posteriormente y se denominará Bagazo de Naranja Procesada B, y dependiendo de su procedencia se identificaron como: B₁, B₂, B₃, B₄, B₅, B₆, B₇, B₈.

1.2 ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICOS DEL BAGAZO DE NARANJAS PROCESADAS.

a) DETERMINACIÓN DE pH UTILIZANDO UN pHMETRO DIGITAL

- a) Calibrar el pHmetro con buffer fosfato pH = 4.0
- b) Calibrar el pHmetro con buffer fosfato pH = 7.0
- c) Adicionar agua destilada a las muestras de bagazo de naranjas procesadas hasta obtener una pasta homogénea.
- d) Con el equipo calibrado realizar las lecturas de pH de las muestras.
(Ver tabla 1 de resultados).

b) DETERMINACION DE HUMEDAD ⁷

Poner a secar los crisoles a temperatura de 100°C durante 1 hora, en una estufa

- a) Sacarlos de la estufa, dejar unos minutos a temperatura ambiente y luego colocarlos en un desecador por 20 min.
- b) Pesar los crisoles
- c) Pesar 1 g de muestra de bagazo de naranja.
- d) Llevar la estufa a una temperatura de 105°C durante 5 horas.
- e) Sacarlos de la estufa, dejar unos minutos a temperatura ambiente y colocarlos en el desecador por 20 minutos.
- f) Pesar los crisoles con su contenido.
- g) Cálculos:

$$\text{HUMEDAD} = \frac{\text{Pérdida de Peso}}{\text{Peso de Muestra}} \times 100$$

$$\text{PERDIDA DE PESO} = \frac{(\text{Peso Crisol} + \text{Muestra})}{\text{Antes de Secar}} - \frac{(\text{Peso Crisol} + \text{Muestra})}{\text{Después de Secar}}$$

Sustituyendo en la fórmula:

Perdida de Peso: 29.7241g – 28.8455g = 0.8786g

% Humedad = 0.8786 / 1.0341 x 100 = 84.96%

(Ver tablas 1, 2, 3, 12, 14 de resultados).

c) DETERMINACIÓN DE CENIZAS ⁷

- a) Calentar los crisoles vacíos durante 2 horas a 500 °C en la mufla.
- b) Sacar los crisoles de la mufla, dejar unos minutos a temperatura ambiente y colocarlos en el desecador por 20 minutos.
- c) Pesar los crisoles en balanza analítica
- d) Pesar 1 g de muestra (en duplicado) de bagazo de naranja.
- e) Llevar a la mufla por 3 horas a 600 °C
- f) Sacar los crisoles de la mufla, dejar unos minutos a temperatura ambiente y luego colocarlos en el desecador por 20 minutos.
- g) Pesar los crisoles en balanza analítica
- h) Cálculos:

$$\% \text{ CENIZA} = \frac{[(\text{Peso de Crisol} + \text{Ceniza}) - (\text{Peso Crisol Vacio})]}{\text{Peso de Muestra}} \times 100$$

Sustituyendo en la fórmula:

$$\% \text{ Ceniza} = 0.0382 / 1.0022 \times 100 = 3.811\%.$$

(Ver tablas 1, 12, 13 de resultados)

d) DETERMINACIÓN DE PROTEINAS

METODO MICRO – KJELDHAL⁷

Este método es el utilizado para la determinación de proteína total, el cuál se divide en dos pasos:

1. DIGESTIÓN:

1. Pesar en papel filtro más o menos 0.1gr. de muestra y colocarla en un balón para micro-kjeldhal de 100ml, si la muestra es líquida medir con pipeta volumétrica 1.0ml.
2. Agregar al balón, pesado y medido exactamente:
 - 0.2 gramos de ácido salicílico.
 - 1.5 gramos de sulfato de sodio o potasio.
 - 1.5 gramos de tiosulfato de sodio.
 - 0.1 gramos de oxido de mercurio.
 - 6.0 ml de ácido sulfúrico.
3. Agitar durante 5 minutos ésta mezcla y colocar los balones en el aparato, al mismo tiempo y conectar el sistema de extracción de vapores.

4. Mover constantemente (por medio de rotación) los balones y esperar hasta que la solución esté clara.

2. DESTILACIÓN:

1. Enfriar los balones, agregar agua destilada más o menos hasta la mitad del bulbo, esperar que enfríen nuevamente.
2. Agregar 3.5 ml solución tiosulfato de sodio al 8%; 6 perlas de vidrio y 15 mililitros de solución de hidróxido de sodio al 50%.
3. Recibir el destilado en un erlenmeyer de 50 ml, el que debe contener 15ml de solución de ácido bórico al 4%, más dos gotas de indicador y colocarlos en el aparato.
4. Destilar aproximadamente 30ml, dejar enfriar y titular con solución de ácido clorhídrico 0.1 ó 0.025 N.
5. Cálculos

$$5.1 \quad \% \text{ NITROGENO} = \frac{0.014007 \times 100N \text{ (Acido)} \times \text{mL Usados}}{\text{Peso de la Muestra}}$$

$$5.2 \quad \% \text{ PROTEINA} = \% \text{ Nitrógeno} \times \text{Factor}$$

$$5.3 \quad \% \text{ PROTEINA}_{\text{BASE SECA}} = \frac{\% \text{ Proteína}}{\% \text{ Materia Seca}} \times 100$$

$$5.4 \quad \% \text{ PROTEINA}_{\text{PRODUCTO FINAL}} = \frac{\% \text{ Proteína}_{\text{Base Seca}} \times \% \text{ Materia Seca}}{100}$$

Datos para la fórmula 5.3:

1. %Proteína = 5.7 (Ver Anexo 2)
2. % Materia seca = 100% - % Humedad etapa crecimiento final (Ver tabla 2)

$$= 100\% - 84.96\%$$

$$= 15.04\%$$

Sustituyendo en la fórmula:

$$\begin{aligned} \text{\%Proteína base seca} &= 5.1 / 15.04 \times 100 \\ &= 37.89\% \text{ (Ver tabla 14 de resultados)} \end{aligned}$$

Datos para la fórmula 5.4

1. %Proteína base seca = Resultado de la fórmula 5.3
2. % Materia seca = 100% - % Humedad del producto final (Ver tabla 12)

$$= 100\% - 19.71\%$$

$$= 80.19\%$$

Sustituyendo en la fórmula = 37.89% X 80.19% /100

$$= 26.1\% \text{ (Ver tabla 12 de resultados)}$$

Igual procedimiento se sigue para los demás datos.

1.3 TRATAMIENTO DE LAS MUESTRAS DE BAGAZO DE NARANJA PROCESADA PARA EL ENRIQUECIMIENTO DE LA PROTEINA.

▪ PROCEDIMIENTO DESCRITO POR EL ANTECEDENTE:

“Los polvos tamizados, de las muestras obtenidas de los dos métodos de secado, se tratan de igual forma; adicionándoles los siguientes nutrientes: 60 g de Nitrato Amónico, 4 g de Fosfato Potásico y 4 g de Sulfato de Magnesio por Kg de materia seca”.¹³

“El inóculo fue preparado utilizando *Aspergillus niger* desarrollado en un medio líquido de dextrosa sabouraud, incubando a 28 °C por 48 horas. Se utilizó para la inoculación una cantidad de 20 ml de la suspensión por cada Kg. de materia seca”.¹³

“La materia prima más el inóculo de *Aspergillus niger* fue colocada en bandeja de plástico, rociando diariamente con aproximadamente 20 ml de agua por bandeja para mantener una alta humedad y removiendo la mezcla. Las lecturas de los análisis, para la determinación de proteína total se realizarán al inicio, en la materia prima procesada, y a los 28 días de la siembra, tiempo óptimo para el crecimiento del microorganismo en este medio. Así mismo se medirá el pH cada 2 días”.¹³

▪ **PROCEDIMIENTO REALIZADO:**

Debido a los costos que involucra trabajar con 1000g de bagazo de naranja seca, como se indica en el antecedente, se trabajó con un 40%, lo que representa 400g de muestra, haciéndose necesario la realización de cálculos matemáticos para establecer la cantidad de nutrientes a utilizar.

- A 400g de la muestra incorporarle en el siguiente orden los reactivos: 24.0g de Nitrato de Amonio, 1.6g de Fosfato de Potasio y 1.6 g de Sulfato de magnesio; los cuales han sido previamente disueltos en agua destilada.
- Tomando las precauciones necesarias y en un área estéril, incorporar el inóculo de *Aspergillus niger*.

- Homogenizar suavemente la mezcla: muestra, reactivos e inóculo.
- Agregar agua destilada hasta que la mezcla esté húmeda al tacto.
- Tomar el valor de pH utilizando papel indicador. La determinación de pH se realizó cada 2 días, humedeciendo la muestra con 20ml de agua destilada cuando era necesario. (Ver tablas 4 – 11 de resultados)
- Realizar las lecturas de porcentaje de proteína total utilizando el método de Micro-Kjeldhal.

El esquema utilizado en las lecturas de proteína total tanto para el método A como para el método B es el siguiente:

FIGURA 1. ESQUEMA DE LECTURAS.



1.4 ANALISIS POSTERIORES

Para establecer un control de calidad del producto final, se realizaron los análisis de humedad, ceniza y pH. (Ver tablas 12, 13 de resultados).

1.5 TRATAMIENTO PREVIO DEL PRODUCTO FINAL, PARA REALIZAR LOS ANÁLISIS DE HUMEDAD, CENIZA Y pH.

“El *Aspergillus niger*, es capaz de producir en el hombre infecciones respiratorias como la bronco pulmonía y el asma, por lo que el primer paso para obtener el producto final, es la inactivación del hongo, lo cual se logra sometándolo a temperaturas superiores a la máxima de crecimiento, debido a que a dicha temperatura la aceleración de muerte es mayor”.²

“La temperatura de inactivación utilizada fue de 40°C, debido a que ésta es el límite para evitar la desnaturalización de la proteína, y además es superior a la temperatura óptima de crecimiento del *Aspergillus niger*”.²

PROCEDIMIENTO:

- Se extendió el producto final húmedo sobre bandejas de aluminio.
- Se introdujeron las bandejas de aluminio en una estufa a 40°C, hasta que se logró el secado del producto final.
- Se procedió a la realización de los análisis finales.

Los análisis finales que se realizaron fueron los mismos que se efectuaron al inicio, es decir: análisis de humedad, análisis de cenizas y pH. Los cuales fueron parte de un control de calidad para el producto final.

V. RESULTADOS

Las determinaciones de humedad, ceniza, porcentaje de proteína y valor de pH realizadas a la materia prima seca sin tratar son los siguientes:

TABLA N°1. RESULTADOS PRELIMINARES DE MATERIA PRIMA DESPUES DEL SECADO POR LOS METODOS A Y B.

PROCEDENCIA	METODO	%HUMEDAD	%CENIZA	%PROTEINA	pH
Mercado Municipal de Apopa	A	7.17	4.12	7.88	4.32
	B	11.89	4.43	5.49	4.38
Mercado Central de San Salvador	A	11.01	4.02	6.99	4.41
	B	12.89	4.31	5.36	4.45
Mercado La Tiendona	A	8.04	3.84	7.01	4.37
	B	10.15	4.21	6.17	4.32
Finca San Alejo Cojutepeque	A	8.15	3.81	7.14	4.67
	B	9.45	4.26	5.61	4.61

Posterior a los 28 días de crecimiento se realizó la determinación de humedad y porcentaje de proteína total en las muestras, tanto para el método A como para el método B, siendo los resultados:

TABLA N°2 RESULTADOS DE HUMEDAD Y PROTEINA EN LA ETAPA DE CRECIMIENTO FINAL PARA EL METODO DE SECADO A.

MUESTRA	%HUMEDAD	%PROTEINA
A1	84.96	5.70
A2	84.81	5.98
A3	85.32	5.08
A4	85.72	5.52
A5	86.92	4.60
A6	85.70	5.09
A7	85.64	5.43
A8	85.42	4.74

TABLA N°3 RESULTADOS DE HUMEDAD Y PROTEINA EN LA ETAPA DE CRECIMIENTO FINAL PARA EL METODO DE SECADO B.

MUESTRA	%HUMEDAD	%PROTEINA
B1	90.50	4.79
B2	90.45	3.93
B3	89.97	4.43
B4	88.99	4.66
B5	87.69	4.66
B6	85.68	3.75
B7	86.62	3.27
B8	86.11	3.40

Una de las condiciones que es necesario controlar para el crecimiento óptimo del *Aspergillus niger* es el valor de pH el cual se determino cada dos días. Los resultados de estas determinaciones se presentan en las siguientes tablas.

TABLA N°4 LECTURAS DE pH MUESTRAS A₁ – A₂

SEMANA	LECTURAS DE pH		
	1°	2°	3°
1a. SEMANA	3.00	3.00	3.00
2a. SEMANA	3.00	3.00	3.00
3a. SEMANA	4.00	4.00	3.00
4a. SEMANA	4.00	3.00	3.00

TABLA N°5 LECTURAS DE pH MUESTRAS A₃ – A₄

SEMANA	LECTURAS DE pH		
	1°	2°	3°
1a. SEMANA	3.00	3.00	3.00
2a. SEMANA	3.00	3.00	4.00
3a. SEMANA	4.00	3.00	4.00
4a. SEMANA	3.00	3.00	3.00

TABLA N°6 LECTURAS DE pH MUESTRAS A₅ – A₆

SEMANA	LECTURAS DE pH		
	1°	2°	3°
1a. SEMANA	3.00	3.00	3.00
2a. SEMANA	3.00	3.00	3.00
3a. SEMANA	4.00	3.00	4.00
4a. SEMANA	4.00	3.00	3.00

TABLA N°7 LECTURAS DE pH MUESTRAS A₇ – A₈

SEMANA	LECTURAS DE pH		
	1°	2°	3°
1a. SEMANA	3.00	3.00	3.00
2a. SEMANA	3.00	3.00	3.00
3a. SEMANA	4.00	3.00	4.00
4a. SEMANA	4.00	3.00	3.00

TABLA N°8 LECTURAS DE pH MUESTRAS B₁ – B₂

SEMANA	LECTURAS DE pH		
	1°	2°	3°
1a. SEMANA	3.00	3.00	3.00
2a. SEMANA	3.00	3.00	3.00
3a. SEMANA	4.00	3.00	4.00
4a. SEMANA	4.00	3.00	3.00

TABLA N°9 LECTURAS DE pH MUESTRAS B₃ – B₄

SEMANA	LECTURAS DE pH		
	1°	2°	3°
1a. SEMANA	3.00	3.00	3.00
2a. SEMANA	3.00	3.00	3.00
3a. SEMANA	3.00	3.00	3.00
4a. SEMANA	3.00	3.00	3.00

TABLA N°10 LECTURAS DE pH MUESTRAS B₅ – B₆

SEMANA	LECTURAS DE pH		
	1°	2°	3°
1a. SEMANA	3.00	3.00	3.00
2a. SEMANA	3.00	3.00	3.00
3a. SEMANA	4.00	3.00	4.00
4a. SEMANA	4.00	3.00	3.00

TABLA N°11 LECTURAS DE pH MUESTRAS B₇ – B₈

SEMANA	LECTURAS DE pH		
	1°	2°	3°
1a. SEMANA	3.00	3.00	3.00
2a. SEMANA	3.00	3.00	3.00
3a. SEMANA	4.00	3.00	4.00
4a. SEMANA	4.00	3.00	3.00

Al producto final obtenido se le realizó la determinación de humedad, cenizas, proteína y valor de pH, tanto para el método de secado A como para el método de secado B, siendo los resultados:

TABLA N°12 RESULTADOS DE PRODUCTO FINAL METODO DE SECADO A.

MUESTRA	%HUMEDAD	%CENIZA	%PROTEINA	pH
A1	19.71	0.94	26.10	3.00
A2	12.32	2.87	29.12	3.00
A3	14.93	2.24	30.17	4.00
A4	13.29	2.79	30.27	3.00
A5	11.33	1.49	32.55	3.00
A6	12.50	1.37	33.15	3.00
A7	14.17	2.53	33.88	4.00
A8	16.41	1.30	34.90	3.00

TABLA N°13 RESULTADOS DE PRODUCTO FINAL METODO DE SECADO B.

MUESTRA	%HUMEDAD	%CENIZA	%PROTEINA	pH
B1	10.86	3.05	30.22	4.00
B2	10.77	3.92	31.71	3.00
B3	9.99	3.01	32.62	4.00
B4	9.38	2.95	33.35	3.00
B5	10.09	2.95	31.00	4.00
B6	11.13	3.96	30.18	4.00
B7	12.18	3.44	29.28	4.00
B8	10.01	2.12	32.60	4.00

**RESUMEN COMPARATIVO DE LOS PORCENTAJES DE PROTEINA
OBTENIDOS EN BASE HUMEDA, SECA Y PRODUCTO FINAL.**

**TABLA N°14 TABLA RESUMEN DE PORCENTAJES DE PROTEINAS
METODO A.**

MUESTRA	%PROTEINA BASE HUMEDA	%PROTEINA BASE SECA	%PROTEINA PRODUCTO FINAL
A1	5.70	37.89	26.10
A2	5.98	39.36	29.12
A3	5.08	34.84	30.17
A4	5.52	38.65	30.27
A5	4.60	35.16	32.55
A6	5.09	35.59	33.15
A7	5.43	37.55	33.88
A8	4.74	32.51	34.90

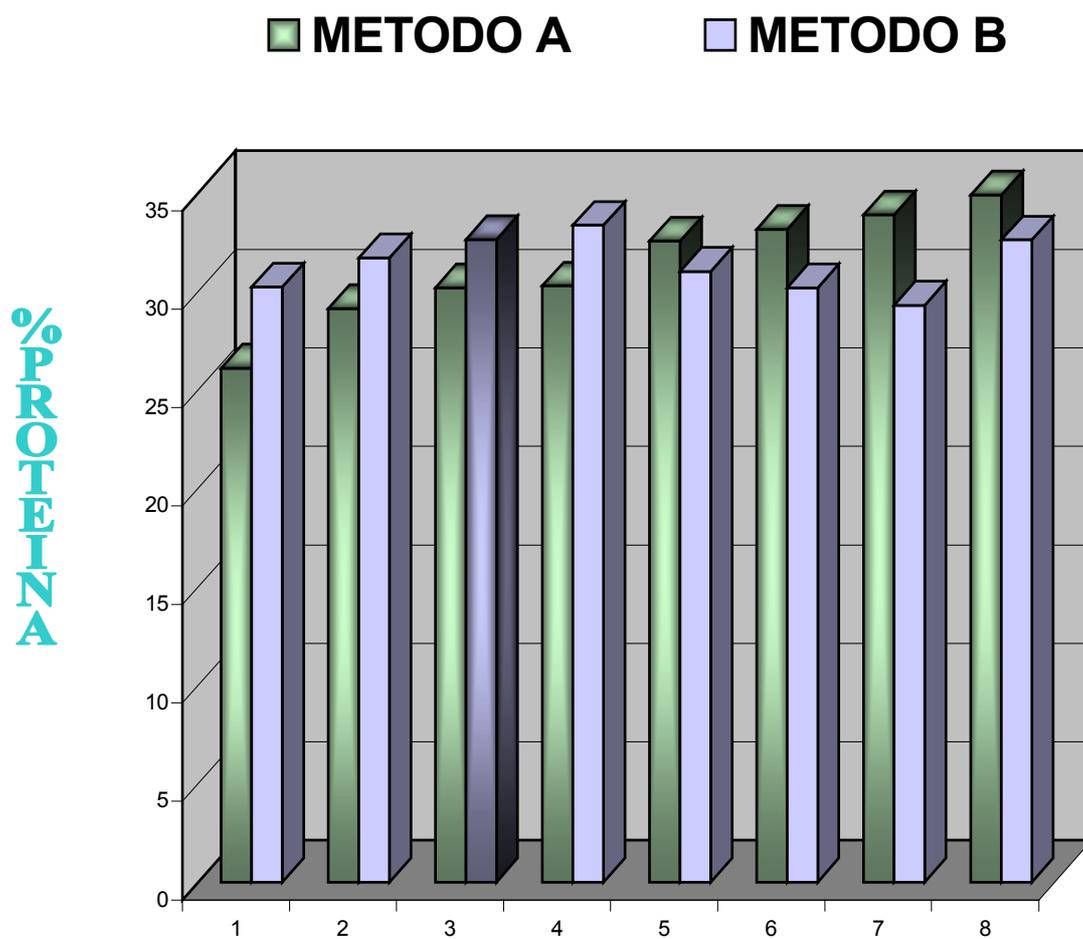
TABLA N°15 TABLA RESUMEN DE PORCENTAJES DE PROTEINA METODO B.

MUESTRA	%PROTEINA BASE HUMEDA	%PROTEINA BASE SECA	%PROTEINA PRODUCTO FINAL
B1	4.79	34.42	30.22
B2	3.93	36.60	32.62
B3	4.43	37.38	33.35
B4	4.66	35.69	31.71
B5	4.66	35.98	32.60
B6	3.75	32.64	29.28
B7	3.27	33.64	30.18
B8	3.40	34.48	31.00

TABLA N°16 TABLA COMPARATIVA DE PORCENTAJE DE PROTEINA EN PRODUCTO FINAL.

MUESTRA	% PROTEINA METODO A	% PROTEINA METODO B
1	26.10	30.22
2	29.12	31.71
3	30.17	32.62
4	30.27	33.35
5	32.55	31.00
6	33.15	30.18
7	33.88	29.28
8	34.90	32.60

GRAFICA N°1 **GRAFICO COMPARATIVO DE PORCENTAJES DE PROTEINA EN PRODUCTO FINAL.**



A partir de los resultados obtenidos de proteína base seca, se trabajó con la diferencia de medias de dos poblaciones relacionadas, la cual permite establecer si existe diferencia significativa entre los porcentajes de proteína total obtenida por los dos métodos de secado.

TABLA N° 17 DETERMINACION DE LA DIFERENCIA ENTRE PORCENTAJE DE PROTEINA.

NUMERO DE MX	%PROTEINA METODO A	% PROTEINA METODO B	DIFERENCIA D _i (X _{1i} - X _{2i})	D _i ²
1	26.10	30.22	- 4.12	16.97
2	29.12	32.62	- 3.50	12.25
3	30.17	33.35	- 3.18	10.11
4	30.27	31.71	- 1.44	2.07
5	32.55	32.60	- 0.05	2.5X10 ⁻³
6	33.15	29.28	3.87	14.97
7	33.88	30.18	3.70	13.69
8	34.90	31.00	3.90	15.21
$\Sigma =$			- 0.82	85.27

De estos datos se obtiene:

$$\sum_{i=1}^n D_i = -0.82 \quad \sum_{i=1}^n D_i^2 = 85.27 \quad ; \text{donde } n = 8$$

Sustituyendo en la fórmula 2 (pag 15)

$$\bar{D} = \frac{\sum_{i=1}^n D_i}{n} = \frac{-0.82}{8} = -0.1025$$

Sustituyendo en la fórmula 3 (pag 15)

$$S_D^2 = \frac{\sum_{i=1}^n D_i^2 - \frac{\left(\sum_{i=1}^n D_i\right)^2}{n}}{n-1}$$

$$S_D^2 = \frac{85.27 - 0.08405}{7} = 12.169$$

$$S_D = 3.48$$

Sustituyendo en la fórmula 1 (pag 15)

$$t_{n-1} = \frac{\bar{D} - \mu_D}{\frac{S_D}{\sqrt{n}}}$$

$$t_7 = \frac{-0.1025}{1.23} = -0.083$$

Se quiere determinar si hay diferencia entre el método A y el método B; para lo cual se tiene una prueba de dos colas en donde la hipótesis nula y alternativa se pueden expresar en la forma siguiente:

$$H_0 : \mu_D = 0$$

$$H_a : \mu_D \neq 0$$

Como se han tomado muestras de 4 procedencias si se selecciona un nivel de significación de 0.05 la regla de decisión se puede expresar en la forma siguiente: (Véase figura 1)

Rechazar H_0 si $t_7 > +3.4995$

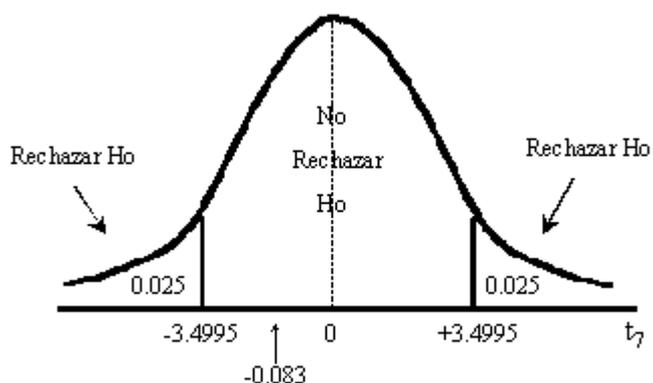
o $t_7 < -3.4995$

De lo contrario no se rechaza H_0 .

Por consiguiente se tiene que $t_7 = -0.083$, por lo tanto no se rechaza H_0 .

Al no rechazar la hipótesis nula, se llegaría a la conclusión que el porcentaje promedio de proteína total obtenida utilizando el método A es igual al obtenido utilizando el método B.

FIGURA N°1 PRUEBA DE DOS COLAS PARA DIFERENCIAS APAREADAS AL NIVEL DE SIGNIFICACIÓN 0.05 CON SIETE GRADOS DE LIBERTAD.



VI. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Para realizar este trabajo, las muestras de bagazo de naranja Valencia (*Citrus sinensis*) fueron secadas por medio de dos métodos: Amargado y Desamargado, en los cuales posteriormente se inoculo el *Aspergillus niger*, con el fin de determinar, cual de ellos ofrece un mayor enriquecimiento proteico.

Posterior al secado de las muestras por ambos métodos A y B se realizaron cuatro análisis: Humedad, Cenizas, pH y Proteína (Ver tabla 1 de resultados), los cuales fueron realizados para tener un parámetro de control de calidad inicial.

Las lecturas de pH (Ver tablas 4 –11 de resultados) se mantuvieron constantes lo cual favoreció al crecimiento del *Aspergillus niger*, evitando al mismo tiempo el crecimiento de otros microorganismos no deseables.

Después de pasar los 28 días de crecimiento óptimo de la proteína, las muestras estaban más húmedas, por esa razón se determino nuevamente la humedad (Ver tablas 2 y 3 de resultados) ya que los resultados de los análisis de proteína fueron en base seca (Ver tablas de anexo 2), haciéndose necesario el realizar cálculos matemáticos posterior a dichos resultados para determinar el valor real de proteína en el producto final (Ver tablas 12 y 13 de resultados) .

El producto final obtenido fue secado, por ello se realizaron nuevamente los análisis de humedad, cenizas y pH (Ver tablas 12 y 13 de resultados) siendo un control de calidad para el producto final.

Debido a los diferentes valores de proteínas obtenidos: en muestra húmeda, en base seca (en base a cálculos matemáticos posterior a la inoculación) y en producto final, se resumieron todos estos valores, comparando

los porcentajes de proteína total obtenidos en cada etapa realizada durante todo el proceso experimental (Ver tablas 14 y 15 de resultados).

Los resultados de proteína total obtenidos para el producto final (Ver tabla 16 y grafica nº1 de resultados) muestra la cercanía de los valores de proteína total para ambos métodos de secado.

CUANTIFICACION DE PROTEINA.

La cuantificación de la proteína total se realizó por el método de micro – Kjeldhal, dicha cuantificación se efectuó después de 28 días, con respecto a la lectura inicial (muestra seca de bagazo de naranja sin tratamiento). (Ver tabla 1 de resultados)

En base a los resultados de proteína total obtenidos por las muestras (Ver tabla 12 y 13 de resultados) se realizaron los cálculos estadísticos respectivos, para identificar el mejor método entre A y B.

Al analizar los resultados estadísticos de los métodos A y B (Ver tabla 17 de resultados), puede observarse que no se presenta una diferencia estadística significativa con respecto a los valores de proteína.

Debido a que ambos métodos no son estadísticamente diferentes podrían emplearse indistintamente, pero el método A es el más conveniente, debido a que es más rápido, económico y ofrece un buen porcentaje de crecimiento de proteína, por el hecho de no incluir en su procedimiento el desamargado previo de las muestras.

VII. CONCLUSIONES

- Al comparar los resultados obtenidos por el Método A con respecto al Método B, no existe estadísticamente una diferencia significativa entre los porcentajes promedios de proteína total. En base a estos resultados de los dos métodos A y B; no es necesario realizar el desamargado en las cáscaras de naranjas, ya que el porcentaje de proteína total obtenido es similar en ambos métodos.
- El contenido de proteína total del vagazo de las naranjas procesadas incrementó en 28 días de un 6.5% a un 31.3% en promedio, que representa un aumento del 381.5%.
- Para un buen crecimiento del *Aspergillus niger* es importante mantener un pH entre 3 y 4.
- Al realizar los análisis de humedad y proteína a la materia seca sin tratar, estos valores fueron mucho menores que los del producto final; con respecto a los resultados de cenizas, fueron mayores para la materia seca sin tratar que para el producto final, manteniéndose constantes los valores de pH para la materia sin tratar y para el producto final.
- Cualquiera de los métodos que se emplee a nivel industrial representa una alternativa para la alimentación de animales de granja, y al mismo tiempo pueden ser aprovechados para disminuir la contaminación ambiental provocada por los desechos de las naranjas.

VIII. RECOMENDACIONES

- Para mejorar y economizar la elaboración de concentrados de animales de granja, se puede sustituir la proteína de soya por la bioproteína ya que esta es más económica y representa un alimento altamente nutritivo porque contiene diversos aminoácidos esenciales.
- No es conveniente realizar el desamargado de la materia prima, ya que genera un mayor gasto de energía, tiempo, trabajo y hace el proceso más caro.
- Por medio de este trabajo se puede establecer una referencia para continuarse a escala industrial y formular un concentrado con alto rendimiento proteico, a un bajo costo.
- Debe fomentarse el empleo del *Aspergillus niger*, en la alimentación de animales de granja debido a que es una fuente de proteína explotable.
- El enriquecimiento del vagazo de naranja con *Aspergillus niger* es una alternativa que disminuye la contaminación ambiental, debido a que permite utilizar un desecho como materia prima para la alimentación de animales de granja.

BIBLIOGRAFÍA

1. Berenson, M. ; Levine, D. Estadística Básica en Administración, 4ª edición, Prentice-Hall Hispanoamérica S.A. México, 1992, pág. 110-125.
2. Carpenter, Philip, Microbiología 4ª edición, Editorial Interamericana, México,1977, pág. 302,304,305,310,311,316,317.
3. Cevallos Aguilar, L. M.; Evaluación de Harina de Sangre de Bovina, como suplemento en la alimentación de pollos de engorde, octubre de 1993, pág.25,26-47.
4. Cook, T. D. ; Reichardt, CH. S. Métodos Cualitativos y cuantitativos en Investigación Evaluativa 1ª edición, Ediciones Morata, S. A. España, 1986, pág. 9-15,25-27
5. Giuseppe, G. Cappelletti; Carlos, Tratado de Botánica, 2ª reimpresión, Editorial Labor, España, 1965, pág. 957-959.
6. Lagos, Jorge; Compendio de Botánica Sistemática, 2ª reimpresión, Dirección de Publicaciones e impresos, San Salvador, 1997, pág.189.
7. Mejia Figueroa, W. E.; Caracterización de un Secador Solar Directo Pasivo, agosto de 1994, anexos 4, 7 y 8.
8. Zaldivar Rodríguez, Margarita Rosa; Estudio Etnobotánico y Farmacognóstico de 15 Especies Medicinales de la Flora Salvadoreña en la Zona Occidental, diciembre1980, pág. 94-97,100.
9. Organización de Estados Americanos(OEA), Universidad de El Salvador (UES) y Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social (MSPAS), Obtención y Aprovechamiento de Extractos Vegetales de la Flora Salvadoreña, Planter El Salvador, 1989, vol.1 pág. 506.

10. Medina Victoria Isabel, Estudios Preliminares sobre la Obtención de Biomasa a partir de los Desechos de Naranja, Revista de Colombia de 1998. Para sacarle más jugo a la naranja; un aporte para disminuir la contaminación ambiental ocasionada por los residuos del procesamiento de la naranja Valencia, al tiempo que se produce una alternativa alimenticia.
11. <http://www.cmh.edu./stats/definitions/retrospective.htm>
 - 1-Investigación no experimental: características de la investigación no experimental, clasificación de los diseños no experimentales, modelos y tipos de evaluación.
 - 2-Investigación evaluativa: la evaluación de los programas, el control de calidad y el proceso de la investigación. Diseño metodológico y los instrumento para el control de calidad.
 - 3-Investigación cualitativa: dimensiones filosóficas, características .
12. http://www.redpav-fpolar.info.ve/fagroluz/v02_3/v023z00

Los microorganismos para producir compuestos químicos, tales como antibióticos, vitaminas, aminoácidos, ácidos orgánicos, alcohol. Solo muy recientemente, desde 1960, aproximadamente los microorganismos han empezado a ser utilizado como fuente de alimentos para animales.
13. <http://www.umss.edu.bo/epubs/eart/downloads/49.pdf>

El *Aspergillus niger* es un hongo rico en aminoácidos como la Isoleucina, Fenilalanina, Leucina, Tirosina, Cisteina, Treonina, Valina, Triptófano y Lisina.

ANEXOS

ANEXO N° 1

CLASIFICACION TAXONOMICA DE **LA NARANJA VALENCIA.**

CLASIFICACION TAXONOMICA DE LA NARANJA VALENCIA

REINO	-----	Plantae
DIVISIÓN	-----	Anthophitas
SUBDIVISIÓN	-----	Angiospermas
CLASE	-----	Dicotiledóneas
FAMILIA	-----	Rutáceae
SUBFAMILIA	-----	Aurantiodeae
TRIBU	-----	Citrieae
SUBTRIBU	-----	Citrinae
GENERO	-----	Citrus
SUBGÉNERO	-----	Eucitrus
ESPECIE	-----	Sinensis
		Variedad --- Valencia
FRUTO	-----	Baya. El fruto de la naranja recibe el nombre de hesperidio.
COMPOSICIÓN QUÍMICA	-----	En la cáscara se encuentran glicósidos flavonoides siendo el más importante el 7-rutenosido de hesperidin. En el epicarpo se encuentra el 6,7-dimetoxicumarina y además flavonoides como el 3,5,7,8,3,4-hexametoxiflavona, mientras que en el jugo se encuentran: diversos carotenoides como sintaxantia y sus derivados fenólicos, ácido ascórbico y otros ácidos orgánicos.
USOS POPULARES	-----	Los cítricos son fuente de vitamina C y ácido cítrico lo que se emplean en la medicina para calmar los nervios alterados y como sudorífico en calenturas.
USOS FARMACÉUTICOS	-----	Como esencia aromatizante en la fabricación de diversas formas farmacéuticas.
USOS INDUSTRIALES	-----	En confitería, cosméticos y en la elaboración de

candelas, actualmente en algunas empresas se extrae su jugo y se comercializa sin emplear preservantes.

Es un rubro prometedor para la diversificación de su uso.

ANEXO N° 2

RESULTADOS DE ANALISIS QUIMICO

DE CASCARA DE NARANJA

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
 FACULTAD DE CIENCIAS AGRONOMICAS
 DEPARTAMENTO DE QUIMICA AGRICOLA

CIUDAD UNIVERSITARIA

Apdo. Postal Nos.747 y 733
 Teléfonos: 2252572 Fax (503) 2251506

Ciudad Universitaria, 6 de Septiembre de 2002.

Bachilleres
 Rhina Rodríguez
 Claudia Mata
 Presentes

Por este medio y de la manera mas atenta, le estoy reportando los resultados.
 De Análisis Químico de Cáscara de Naranja con números de entrada 205 al
 212 con fecha de Agosto del corriente año.

<i>No de Laboratorio</i>	<i>Identificación de la Muestra</i>	<i>% de Proteína Total</i>
205	Cáscara de Naranja A1, San Alejo	5.70
206	Cáscara de Naranja A2, San Alejo	5.98
207	Cáscara de Naranja A4, Mercado de Apopa	5.52
208	Cáscara de Naranja A3, Mercado de Apopa	5.08
209	Cáscara de Naranja A5, Mercado La Tiendota	4.60
210	Cáscara de Naranja A6, Mercado La Tiendona	5.09
211	Cáscara de Naranja A7, Mercado Central	5.43
212	Cáscara de Naranja A8, Mercado Central	4.74

Sin más por el momento, me suscribo de Usted,

Atentamente

HACIA LA LIBERTAD POR LA CULTURA

Dra. Francisca Caña de Moreno
 Jefe del Depto. De Química Agrícola
 ddea
 c.c Archivo

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
 FACULTAD DE CIENCIAS AGRONOMICAS
 DEPARTAMENTO DE QUIMICA AGRICOLA

CIUDAD UNIVERSITARIA

Apdo. Postal Nos.747 y 733
 Teléfonos: 2252572 Fax (503) 2251506

Ciudad Universitaria, 6 de Septiembre de 2002.

Bachilleres
 Rhina Rodríguez
 Claudia Mata
 Presentes

Por este medio y de la manera mas atenta, le estoy reportando los resultados.
 De Análisis Químico de Cáscara de Naranja con números de entrada 205 al
 212 con fecha de Agosto del corriente año.

<i>No de Laboratorio</i>	<i>Identificación de la Muestra</i>	<i>% de Proteína Total</i>
213	Cáscara de Naranja B1, San Alejo	4.79
214	Cáscara de Naranja B2, San Alejo	3.93
215	Cáscara de Naranja B3, Mercado de Apopa	4.43
216	Cáscara de Naranja B4, Mercado de Apopa	4.66
217	Cáscara de Naranja B5, Mercado La Tiendona	4.66
218	Cáscara de Naranja B6, Mercado La Tiendona	3.75
219	Cáscara de Naranja B7, Mercado Central	3.40
220	Cáscara de Naranja B8, Mercado Central	3.27

Sin más por el momento, me suscribo de Usted,

Atentamente

HACIA LA LIBERTAD POR LA CULTURA

Dra. Francisca Caña de Moreno
 Jefe del Depto. De Química Agrícola
 ddea
 c.c Archivo

ANEXO N° 3

TABLA ESTADISTICA DE LA DISTRIBUCION t DE STUDENT

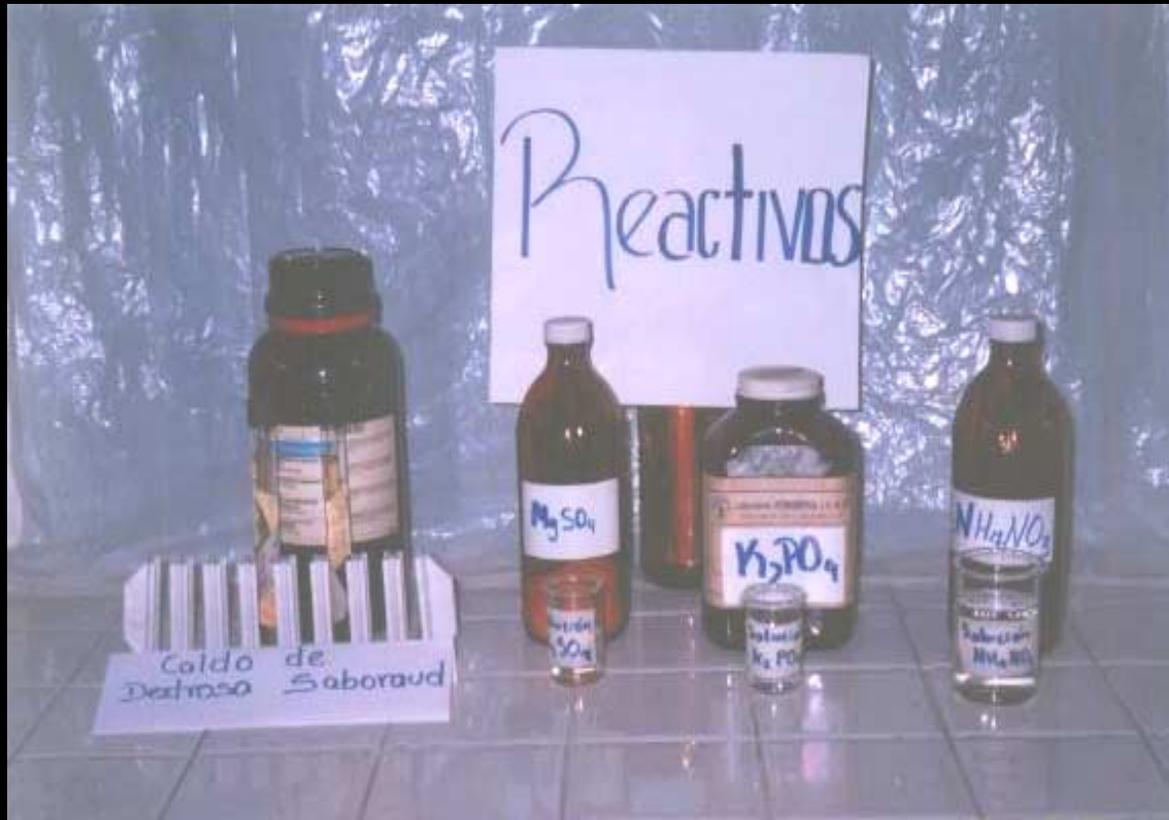
TABLA E Percentiles de la distribución

d.f	t. _{.90}	t. _{.95}	t. _{.975}	t. _{.99}	t. _{.995}
1	3.078	6.3138	12.706	31.821	63.675
2	1.886	2.9200	4.3027	6.965	9.9248
3	1.638	2.3534	3.1825	4.541	5.8409
4	1.533	2.1318	2.7764	3.747	4.6041
5	1.476	2.0150	2.5706	3.365	4.0321
6	1.440	1.9432	2.4469	3.143	3.7074
7	1.415	1.8946	2.3646	2.998	3.4995
8	1.397	1.8595	2.3060	2.896	3.3554
9	1.383	1.8331	2.2622	2.821	3.2498
10	1.372	1.8125	2.2281	2.764	3.1693
11	1.363	1.7959	2.2010	2.718	3.1058
12	1.356	1.7823	2.1788	2.681	3.0545
13	1.350	1.7709	2.1604	2.650	3.0123
14	1.345	1.7613	2.1448	2.624	2.9768
15	1.341	1.7530	2.1315	2.602	2.9467
16	1.337	1.7459	2.1199	2.583	2.9208
17	1.333	1.7396	2.1098	2.567	2.8982
18	1.330	1.7341	2.1009	2.552	2.8784
19	1.328	1.7291	2.0930	2.539	2.8609
20	1.325	1.7247	2.0860	2.528	2.8453
21	1.323	1.7207	2.0796	2.518	2.8314
22	1.321	1.7171	2.0739	2.508	2.8188
23	1.319	1.7139	2.0687	2.500	2.8073
24	1.318	1.7109	2.0639	2.492	2.7969
25	1.316	1.7081	2.0595	2.485	2.7874
26	1.315	1.7056	2.0555	2.479	2.7787
27	1.314	1.7033	2.0518	2.473	2.7707
28	1.313	1.7011	2.0484	2.467	2.7633
29	1.311	1.6991	2.0452	2.462	2.7564
30	1.310	1.6973	2.0423	2.457	2.7500
35	1.3062	1.6896	2.0301	2.438	2.7239
40	1.3031	1.6839	2.0211	2.423	2.7045
45	1.3007	1.6794	2.0141	2.412	2.6896
50	1.2987	1.6759	2.0086	2.403	2.6778
60	1.2959	1.6707	2.0003	2.39	2.6603
70	1.2938	1.6669	1.9945	2.381	2.6480
80	1.2922	1.6641	1.9901	2.374	2.6388
90	1.2910	1.6620	1.9867	2.368	2.6316
100	1.2901	1.6602	1.9840	2.364	2.6260
120	1.2887	1.6577	1.9799	2.358	2.6175
140	1.2876	1.6558	1.9771	2.353	2.6114
160	1.2869	1.6545	1.9749	2.35	2.6070
180	1.2863	1.6534	1.9733	2.347	2.6035
200	1.2858	1.66525	1.9719	2.345	2.6006
∞	1.282	1.645	1.96	2.326	2.576

ANEXO N° 4

FOTOGRAFIAS DEL TRABAJO EXPERIMENTAL

Reactivos utilizados en la siembra del *Aspergillus niger*.



Bagazo de naranja después de la inoculación del *Aspergillus niger*.



Muestras de bagazo de naranja valencia (*Citrus sinensis*) secadas por el método A.



**Primera semana de crecimiento del
Aspergillus niger por el método A.**



**Tercera semana de crecimiento de
Aspergillus niger por el metodo A.**



Crecimiento óptimo del *Aspergillus niger* por el método A.



**Bioproteína obtenida al final del proceso
mediante el método A.**



**Muestras de bagazo de naranja valencia
(*Citrus sinensis*) secadas por el método B.**



**Primera semana de crecimiento del
Aspergillus niger por el método B.**



**Tercera semana de crecimiento del
Aspergillus niger por el método B.**



Crecimiento óptimo del *Aspergillus niger* por el Método B.



**Bioproteína obtenida al final del proceso
mediante el método B.**

