

## CARACTERIZACIÓN DE PROTEÍNAS VEGETALES PARA EL DISEÑO DE PRODUCTOS DESTINADOS A ALIMENTACIÓN VEGANA

Martínez Zaffuán, María Celina

*Instituto de Desarrollo Tecnológico para la Industria Química INTEC- CONICET*

*Director: Manzo, Ricardo*

*Codirector: Niizawa, Ignacio*

Área: Ciencias Biológicas

Palabras claves: concentrados proteicos, arveja amarilla, tecnofuncionalidad.

### INTRODUCCIÓN

El empleo de alternativas vegetales para la producción de alimentos de excelente valor biológico y nutricional es una temática de alto impacto e interés para la sociedad actual. Entre las proteínas vegetales, la proteína de soja es la que cuenta con mayores estudios. Sin embargo, la proteína de arveja amarilla presenta propiedades nutricionales, hipoalergénicas y antioxidantes (Zijian *et al.*, 2022) como así también funcionalidades tecnológicas potenciales que podrían permitir utilizarla como sustituto a la proteína de soja. Además, resultan muy interesantes dado su origen sustentable, bajos costos y grandes beneficios a la salud en comparación con las proteínas cárnicas. Como contrapartida, se observa que este tipo de proteínas poseen una pobre solubilidad en solución acuosa, elevada complejidad estructural y mayor sensibilidad a los factores medioambientales, lo que afecta en sus propiedades funcionales limitando su aplicación a nivel industrial. La modificación de la proteína de arveja amarilla por medio de la transformación de sus propiedades fisicoquímicas, permitiría estimular y diversificar sus propiedades biológicas y tecnofuncionales, además de resolver ciertas limitaciones. Es por ello que en el presente trabajo se realizó la caracterización fisicoquímica de un concentrado proteico vegetal comercial elaborado a partir de arveja amarilla (*Pisum sativum* L.), a fin de evaluar su potencial utilización en formulaciones alimentarias.

### OBJETIVOS

- Caracterizar fisicoquímica y funcionalmente la proteína obtenida de la arveja amarilla.
- Indagar acerca de las mejores alternativas que aumenten la solubilidad del producto.

Título del proyecto: TRANSFORMACIONES MICROBIANAS Y ENZIMÁTICAS SOBRE SUBPRODUCTOS DE LA INDUSTRIA AVÍCOLA PARA LA ELABORACIÓN DE HIDROLIZADOS BIOACTIVOS CON POTENCIAL USO COMO INGREDIENTES ALIMENTARIOS

Instrumento: PIBAA 2022-2023 Código: 28720210100224CO

Año convocatoria: 2022

Organismo financiador: CONICET

Director/a: Manzo, Ricardo Martín

## METODOLOGÍA

### Materiales

Se empleó un concentrado proteico vegetal elaborado a partir de granos de arveja amarilla (*P. sativum*) el cual fue provisto por la empresa Tomorrow Foods (Bs. As., Arg.). Se utilizó aceite de girasol de origen comercial de alta calidad para los estudios de capacidad emulsionante.

### Caracterización fisicoquímica

Contenido de humedad: se utilizó un equipo CEM AVC 80 para determinar la humedad de la muestra por evaporación de agua por microondas hasta pesada constante; y, por otro lado, se realizó otro método por secado en estufa a 104°C durante 24 h. Contenido de cenizas: se empleó un método por incineración en mufla a 550°C durante 4 h. Contenido de proteínas: por un lado, se aplicó el método desarrollado por Kjeldahl utilizando un equipo semiautomático Büchi (Büchi Labortechnik AG, Flawil, Suiza) que mide el contenido de nitrógeno total y se utilizó el factor de conversión de nitrógeno de 5,52 (Robert, 2006). Por otro lado, se empleó la metodología propuesta por Bradford (1976).

### Caracterización tecnofuncional

Para mejorar la solubilidad y así evaluar en condiciones óptimas las propiedades tecnofuncionales de la matriz proteica se realizaron una serie de modificaciones al producto original (PPC – Pea Protein Concentrate). En ellas los siguientes tratamientos: se trabajó con cinco muestras en solución con agua destilada a una concentración del 2% (m/v) del PPC. Las muestras se clasificaron como muestra original sin tratamiento (M1), muestra con pH ajustado a 12 y luego de 2 h llevado nuevamente a pH 7 (M2), muestra con pH ajustado a 12, ultrasonido a 0.65W/mL durante 6 min a 25°C y llevado a pH neutro (M3), muestra con pH ajustado a 12 y temperatura a 85°C durante 15 min y llevado a pH neutro (M4) y muestra tratada con pH ajustado a 12, ultrasonido, temperatura y llevado a pH neutro (M5). Luego de los tratamientos realizados, se utilizó la centrifuga Biofuge 28RS (Heraeus Sepatech, Osterode, Alemania) a 12310 rpm, 25°C durante 30 min. Las muestras obtenidas en cada tratamiento de solubilización mencionado, se caracterizaron de acuerdo a su perfil electroforético, turbidez, potencial Z y distribución de tamaño de partícula.

Perfil electroforético: para determinar el tipo, la distribución de tamaños moleculares, así como la abundancia relativa de las proteínas estudiadas, se realizó una electroforesis en geles de poliacrilamida al 13% T en condiciones desnaturalizantes (SDS-PAGE).

Turbidez: se midió la turbidez de las muestras a 600 nm como un indicativo de la concentración de proteínas en el sobrenadante utilizando un espectrofotómetro UV-VIS (BioSmartest). El blanco utilizado fue agua destilada.

Potencial Z: para determinarlo se utilizó un equipo analizador de partículas Litesizer 500 (Anton Paar, Graz, Austria) midiendo la dispersión electroforética de la luz. A cada muestra se le realizó una dilución al 0,3% (v/v) con buffer fosfato de sodio 10 mM a pH 7 y luego se trabajó a la misma concentración, pero utilizando distintos buffers a pH 3, 4, 4.5, 5, 6 y 7.

Distribución de tamaño de partícula: se utilizó el mismo equipo que en potencial Z aunque midiendo la dispersión dinámica de la luz, para lo cual se trabajó con una transmitancia del 70% lo que implicó realizar diluciones a cada muestra para alcanzar el rango deseado. Asimismo, se determinaron los valores del diámetro hidrodinámico (DH en nm) y del índice de polidispersión (IP en %).

**Capacidad emulsionante:** se empleó la metodología descrita por Eberhardt (2018) con algunas modificaciones. Las muestras evaluadas, correspondientes al tratamiento con temperatura (M4), se diluyeron en agua destilada a concentraciones del 0,5%, 1% y 2% (v/v) a pH 3, 5 y 7 y se añadieron 4 mL de aceite de girasol comercial de alta calidad. Se homogeneizaron a alta velocidad empleando un Ultra-Turrax (IKA Werke, Alemania) a 11000 rpm durante 3 min y luego se centrifugaron con una centrifuga CRC-658 (CAPP, Alemania) a 3000 rpm durante 5 min a temperatura ambiente de forma de evaluar la estabilidad de la emulsión generada.

Todos los ensayos efectuados se realizaron por duplicado a no ser que se especifique particularmente aquellos realizados por triplicado.

## RESULTADOS Y CONCLUSIONES

**Caracterización fisicoquímica.** El contenido de humedad determinado mediante microondas fue de  $2,09 \pm 0,495$  % y mediante estufa fue  $6,23 \pm 0,214$  %. El contenido de cenizas fue  $6,54 \pm 0,338$  %. El contenido de proteínas por método Kjeldahl resultó ser de  $59,77 \pm 0,47$  g de proteína de arveja cada 100 g de producto.

### Caracterización tecnofuncional

Tabla 1: resultados de propiedades tecnofuncionales de muestras de PPC tratadas con diferentes protocolos de solubilización

Muestras	Proteína cuantificada por Bradford (g/mL)	Solubilidad (%)	Turbidez (Abs 600 nm)	Radio hidrodinámico (nm)	Índice de polidispersión (%)
M1	$0,0022^a \pm 0,0003$	$18,29^a \pm 2,427$	0,1353	$136,91^a \pm 1,523$	$25,13^c \pm 1,305$
M2	$0,0030^b \pm 0,0002$	$24,92^b \pm 1,578$	0,2386	$159,55^b \pm 2,141$	$23,63^{bc} \pm 1,501$
M3	$0,0086^c \pm 0,0002$	$71,64^c \pm 1,164$	0,1991	$102,98^c \pm 1,407$	$19,00^a \pm 1,345$
M4	$0,0088^{cd} \pm 0,0001$	$73,87^{cd} \pm 0,895$	0,2864	$142,37^d \pm 3,600$	$21,87^b \pm 2,120$
M5	$0,0089^d \pm 0,0001$	$74,55^d \pm 1,114$	0,1855	$107,18^e \pm 1,326$	$22,50^{bc} \pm 1,200$

Figura 1: SDS-PAGE de muestras de PPC tratadas con diferentes métodos de solubilización. Las diferentes bandas se asignaron a vicilina (Vi), legumina (L), convicilina (Cv) y lipoxigenasas (Lox) según referencias de otros autores (Zijian et al., 2022).

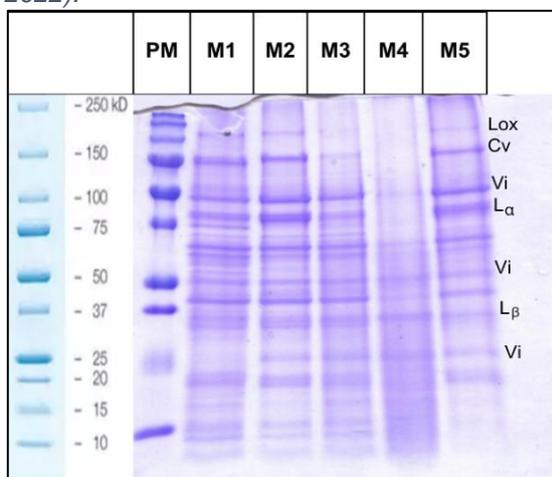


Figura 2: curvas de potencial Z de muestras de PPC con los tratamientos destinados a aumentar su solubilidad.

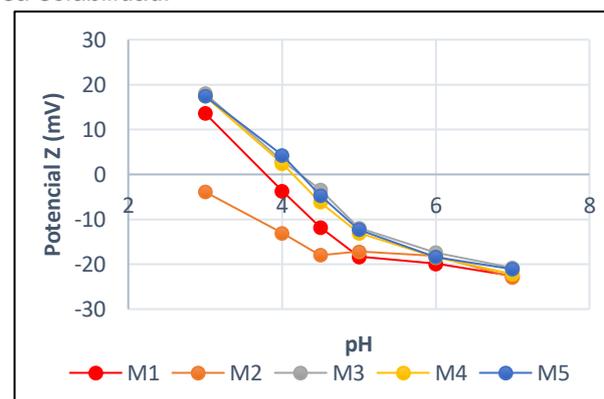
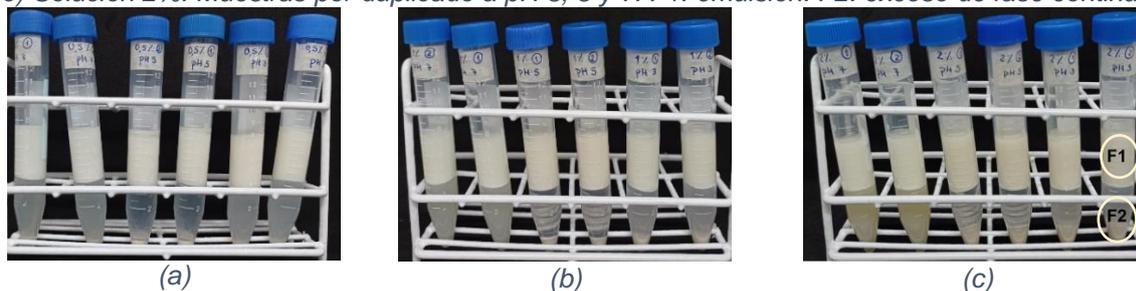


Figura 3: capacidad emulsionante de las muestras estudiadas. (a) Solución 0,5%. (b) Solución 1%. (c) Solución 2%. Muestras por duplicado a pH 3, 5 y 7. F1: emulsión. F2: exceso de fase continua.



En la Tabla 1 se muestra que, tanto para la cantidad de proteína cuantificada por Bradford como para la solubilidad, M4 no presentó diferencias estadísticamente significativas respecto a M3 y M5. Se visualiza que la turbidez resultó mayor en M2 y M4 respecto al resto de las muestras. En relación al radio hidrodinámico, existen diferencias estadísticamente significativas entre todas las muestras, mientras que, para el índice de polidispersión, las muestras M2 y M5 no presentaron diferencias estadísticamente significativas entre sí.

En la Fig. 1 se observa que M4 no presenta bandas definidas en la parte superior del gel. Esto puede deberse a que el tratamiento aplicado resultó demasiado agresivo para algunas proteínas de alto peso molecular y menor solubilidad, aumentando la presencia de proteínas de menores pesos moleculares en las regiones inferiores del gel.

En la Fig. 2 se observan las curvas de potencial Z para las muestras tratadas con los diferentes métodos de solubilización. Los valores obtenidos para cada uno de ellos fueron de 3,8 para M1, de 4,25 para M3, de 4,12 para M4 y 4,25 para M5.

De acuerdo a los resultados obtenidos, se observó que las propiedades tecnofuncionales analizadas se vieron afectadas por los tratamientos de solubilización aplicados.

A partir de los resultados anteriores, se decidió estudiar la capacidad emulsionante con la muestra M4, ya que fue la que presentó mayor concentración de proteínas y solubilidad. En la Fig. 3 se aprecian los resultados evaluados cualitativamente a través de imágenes, donde se detectó que las emulsiones fueron estables en el rango evaluado, ya que ninguna presentó la liberación de aceite luego del proceso de centrifugación.

De esta manera, en el presente trabajo se logró caracterizar el PPC, a partir de la evaluación de sus propiedades fisicoquímicas y tecnofuncionales. Se obtuvieron resultados promisorios que servirán de base para proyectar sobre transformaciones enzimáticas para obtener hidrolizados proteicos y continuar evaluando la posibilidad de mejorar sus características para que puedan ser incorporadas dentro de matrices alimentarias en procesos industriales.

## BIBLIOGRAFÍA

**Bradford, M.** 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*, 72(1-2), 248-254.

**Eberthardt, A.** 2018. Hidrolizados enzimáticos de proteína de suero lácteo: obtención, purificación y evaluación de la presencia de propiedades bioactivas. Trabajo Final de Lic. en Nutrición. FCB-UNL

**Robert, C.** 2006. Comprehensive review of scientific literature pertaining to nitrogen protein conversion factors. *International Dairy Federation* 405/2006.

**Zhi, Z.; Yan, L.; Li, H.; Dewettinck, K.; Van der Meeren, P.; Liu, Rui.; Van Bockstaele, F.** 2022. A combined approach for modifying pea protein isolate to greatly improve its solubility and emulsifying stability. *Food Chemistry* 380, 131832.