

INFLUENCIA PUNTO ISOELÉCTRICO EN EL RENDIMIENTO DE AISLADOS PROTEICOS DE ORIGEN VEGETAL

SCIENTIFIC EVIDENCE OF THE ISOELECTRIC POINT IN THE YIELD OF PROTEIN ISOLATES OF PLANT ORIGIN

Silvia Estefania León Morejón¹, Denis Viterbo Moncayo Palchisaca²

{leon.silvia.e@gmail.com ¹, vite.p94@gmail.com²}

Fecha de recepción: 10 de agosto de 2022 /Fecha de aceptación: 7 de octubre de 2022 /Fecha de publicación: 29 de diciembre de 2022

RESUMEN: En la actualidad existe un interés creciente por la obtención de productos proteicos vegetales destinados para consumo humano debido principalmente a los beneficios que aportan las proteínas con sus diferentes propiedades nutricionales, funcionales y biológicas, razón por la cual se analiza varias fuentes vegetales y métodos para la extracción de aislados, uno de estos métodos es la extracción con precipitación isoelectrónica a pHs ácidos y básicos estudiando el método y la influencia que tiene tanto en el rendimiento de aislado como en la concentración de proteína. Para ello se tomó referencias de otros estudios realizados en cereales, pseudocereales nueces, raíces, frutos y oleaginosas. En el presente estudio se investiga la influencia del punto isoelectrónico en el rendimiento de aislados proteicos de origen vegetal, siendo el método una opción de estudio debido a su facilidad y bajo costo para la investigación, beneficiando a las industrias de alimentos, farmacéutica entre otras.

Palabras clave: *proteína, pH, solubilidad, método.*

ABSTRACT: Currently there is a growing interest in obtaining vegetable protein products intended for human consumption mainly due to the benefits provided by proteins with their different nutritional, functional and biological properties, which is why various plant sources and methods for the extraction of isolates, one of these methods is extraction with isoelectric precipitation at acidic and basic pHs, studying the method and the influence it has on both isolate yield and protein concentration. For this, references were taken from other studies carried out on cereals, pseudo-cereals, nuts, roots, fruits and oilseeds. The present study investigates the influence of the isoelectric point on the performance of protein isolates of plant origin, the method being a study option due to its ease and low cost for research, benefiting the food and pharmaceutical industries, among others.

Keywords: *protein, pH, solubility, method.*

¹ Investigador Independiente, Ecuador.

² Investigador Independiente, Ecuador.

INTRODUCCIÓN

A nivel mundial debido a las enfermedades terminales los consumidores han generado nuevas tendencias de consumo de alimentos, una de ellas, la sustitución de proteína animal por vegetal. La cual va relacionada con los mitos y el creciente interés de los consumidores por su salud y bienestar (1). Debido a lo anterior, los estudios se han enfocado en fuentes alternativas de proteínas que pueden suministrar cantidades suficientes de aminoácidos esenciales, donde las proteínas de origen vegetales representan una fuente importante de nutrientes y propiedades de gran interés, debido a su alto contenido de proteína, variedad, disponibilidad, aceptabilidad y bajo costo (2).

Las proteínas presentan una elevada capacidad biológica en el organismo de personas, gracias a su función estructural, son usadas en procesos de crecimiento y reparación del organismo de las personas y pueden ser empleadas como fuente de energía en caso de que las reservas de lípidos y glúcidos. Son macromoléculas de origen orgánico, constituidas principalmente de carbono, hidrogeno, oxígeno, nitrógeno y azufre, que se encuentran conformadas por secuencias de aminoácidos unidas entre sí por enlaces peptídico (3), La calidad biológica de las proteínas viene determinada por el tipo de aminoácidos presentes en la secuencia que la conforman (4). Cada vez existe más investigaciones que sugieren que las proteínas de origen vegetal presentan efectos benéficos en diferentes sistemas del organismo, particularmente en el tejido adiposo se ha encontrado que muestran actividad antioxidativa, antiinflamatoria, lipolítica y acción en la sensibilidad de insulina (5).

La cadena y tipo de aminoácidos que conforman las proteínas determinan la calidad biológica de la proteína aislada. Además, los monómeros de las proteínas se pueden clasificar en aminoácidos esenciales, cuando solo pueden ser obtenidos a través de la dieta y aminoácidos no esenciales, cuando estos pueden ser sintetizados a partir de los alimentos que ingerimos. La importancia de los aislados de proteínas de origen vegetal en la dieta se debe a la aportación de aminoácidos esenciales necesarios para el desarrollo y mantenimiento de células y tejidos del cuerpo humano. Como consecuencia de la digestión de las proteínas, además de aminoácidos libres, se liberan péptidos, que son cadenas con distintos números de aminoácidos (6). Las proteínas de origen vegetal aisladas podrían poseer un alto valor como ingredientes funcionales (7) (8) manifiesta que la industria alimentaria se encuentra en la búsqueda de proteínas alternativas que puedan competir con las que, con las proteínas de origen vegetal. Para aislar proteína vegetal pueden ser obtenidos por el método de solubilización alcalina, (9) seguido de precipitación en el punto isoeléctrico (10).

Citado por Nesterenko las proteínas de los vegetales se pueden clasificar de acuerdo a su localización; embrión y periodismo, a su función; actividad enzimática, estructurales y embolismales, características al momento de aislar la proteína. Para la extracción de proteínas se utiliza varios solventes; proteína soluble en agua (albuminas) soluciones salinas (globulinas), soluciones alcohólicas (prolaminas), soluciones acidas o básicas (glutelinas) (11).

El presente estudio constituye un aporte para la investigación, la industria de alimentos, y farmacéutica. La iniciativa del estudio son por las propiedades que poseen los aislados proteicos de origen vegetal (12), además del análisis del método del punto isoeléctrico y su influencia en porcentaje del rendimiento de proteína y el contenido de proteína, en ciertos estudios el método de la precipitación isoeléctrica para la extracción de proteínas de origen vegetal, cada vez es más aplicado debido a su bajo costo y mayor rendimiento. En algunos estudios de quinua y cañihua a pH 10,5 se obtiene el máximo rendimiento y a pH 7,5 el mínimo rendimiento (13).

En los aislados proteicos particularmente se analiza el mejor método de extracción en base al rendimiento, pureza, color, contenido proteico o características funcionales. En el presente estudio se analizará la influencia del punto isoeléctrico en el rendimiento de aliados de origen vegetal y en el contenido. Con ese estudio se espera resolver la siguiente interrogante: ¿Afecta el punto isoeléctrico en el porcentaje de aislados proteicos y su contenido de proteína en alimentos de origen vegetal?, siendo un punto de partida para investigar varias fuentes donde se analiza el método de precipitación isoeléctrica.

MATERIALES Y MÉTODOS

La metodología aplicada fue una revisión bibliográfica de distintos documentos científicos de investigaciones acerca los aislados proteicos de origen vegetal y la influencia del punto isoeléctrico en el rendimiento y contenido proteico. Se analizaron varios artículos aplicando el *Methodoly Research* especificado en la tabla N°1, método que se utilizó para la búsqueda y análisis de información científica.

Tabla 1. Methodoly Research

Pregunta de Investigación	¿Cómo influye el punto isoeléctrico en el rendimiento de aislados proteicos de origen vegetal?
ESTRATEGIA DE BUSQUEDA	Aislados proteicos Punto isoeléctrico de proteína vegetales Aislado proteicos de oleaginosas Aislados proteicos de cereales

INFLUENCIA PUNTO ISOELÉCTRICO EN EL RENDIMIENTO DE AISLADOS PROTEICOS DE ORIGEN VEGETAL

	Concentración de proteína
FUENTES DE INFORMACION	ARTICULOS CIENTIFICO
MOTOR DE BUSQUEDA	GOOGLE ACADEMICO, ERIC
CRITERIO DE BUSQUEDA	<p>GOOGLE ACADEMICO CEREALES "AISLADOS PROTEICOS" PUNTO ISOELÉCTRICO"PROTEÍNAS VEGETALES" AISLADOS+PROTEICOS+QUINUA+RENDIMIENTO AISLADOS+PROTEICOS+AMARANTO+RENDIMIENTO QUINOA+PROTEIN ISOLATE HYDROLYSIS+OF +PROTEIN PROTEIN+ISOLATION+<u>EXTRACTION+ OPTIMIZATION</u></p> <p>ERIC PROTEIN+ISOLATION</p> <p>MICROSOFT ACADEMIC SEARCH EXTRACCION+PROTEINAS+PUNTO ISOLECTRICO EXTRACCION+PROTEINAS+PUNTO ISOLECTRICO-RENDIMIENTO EXTRACCION+PROTEINAS+PUNTO ISOLECTRICO+CEREALES</p>
CRITERIO DE INCLUSIÓN	Aislados proteicos cereales Extracción de proteínas, método punto isoeléctrico de origen vegetal Hidrolisis de proteína INGLES ESPAÑOL PUBLICACION DESDE 2010 INGLES Protein+isolation hydrolysis of protein Protein isolation <u>extraction optimization</u>
CRITERIO DE EXCLUSIÓN	Estudios económicos.
CRITERIOS DE EVALUACIÓN	<p>PROBLEMA: Aislamiento de proteína de origen vegetal utilizando diferentes phs. METODOLOGÍA UTILIZADA: Methodoly Research para la búsqueda de información científica. SOLUCIONES: Efecto de los pHs en el rendimiento de los aislados y concentración de proteína.</p>
ANALISIS DE INFORMACION	RESUMEN, METOLOGIA, RESULTADOS

Los motores de búsqueda utilizados para la revisión bibliográfica son Google Académico, MAS, Scielo, analizando artículos científicos indexadas con información aprobada anteriormente de los últimos 10 años.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las proteínas son las macromoléculas orgánicas más abundantes en las células vivas, estas se desempeñan como componentes estructurales, enzimas, hormonas, mensajeros, transportadores y componentes del sistema inmune, constituyen un total de 20 aminoácidos (14), donde 9 de ellos el organismo no los puede sintetizar, y son llamados esenciales, razón por la cual cada vez existe más investigaciones de aislados proteicos de origen vegetal, debido a las propiedades funcionales que pueden presentar (15).

Los concentrados proteicos se caracterizan por presentar en su composición un contenido proteico aproximado del 80% de su peso seco (16). Estos pueden ser elaborados a partir de semillas, hojas, cereales, nueces desgrasadas o enteras, en función del tipo de grano y del uso o fin con el que se produzca el concentrado. El pH es con el cual el número de cargas positivas se iguala al número de cargas negativas que aportan los grupos ionizables de una molécula o proteína. En el punto isoeléctrico la carga neta de la molécula y/o proteína es cero (17).

Un cambio en el pH del ambiente natural de las proteínas, existirá modificaciones en su conformación debido a cambios en la ionización de las cadenas laterales cargadas. Para procesos de extracción de proteínas de origen vegetal el tratamiento alcalino el que se aplica con mayor frecuencia. Donde el aislamiento se realiza solubilización alcalina a valores de pH cercanos a 10.96 (3).

El punto isoeléctrico en algunas leguminosas es de 4.5, en el caso del trigo 4.22 y en las proteínas de arroz alrededor de 4.26 (18). En cambio (4) estableció que el rango de mayor precipitación de las proteínas se logra a pHs comprendidos entre 4 y 4.25. También los solventes altamente alcalinos ayudan a romper los puentes de hidrógeno y a disociar el hidrógeno de los grupos sulfato carbónico, así el incremento de la carga superficial de las moléculas proteicas aumenta la solubilidad en agua y aumentando la precipitación del aislado (19), como muestran estudios previos, en los que se utilizó como solvente NaOH al 0.1M, logrando extracciones entre el 55% y 90% de proteína de arroz y 56,4% de proteína de hojas de té (19). En el presente estudio se analiza algunos estudios de extracción de proteínas de origen de vegetales como se detalla a continuación.

Aislado de Moringa: en el estudio se analiza las semillas de un árbol de rápido crecimiento y alto contenido proteico, fuente factible de proteína vegetal, los valores más altos de proteína se presentaron para el tratamiento extraído a un pH de 11.0 en la solubilización alcalina y pH de 4.0 en la precipitación isoeléctrica, obteniendo un contenido proteico de 49.67 %, valor relativamente bajo considerando que fue extraído de semilla, la cual tiene un 37.48 % de

proteína (20). En otros estudios Bocarando manifiesta que es posible obtener un aislado mediante solubilización alcalina con un rango de pH de 11.5-13.0, y precipitación isoeléctrica de 3.0-5.5 siendo las proteínas tipo globulares, las que presentan la mínima solubilidad (21). En el pH de 3.0-5.5 se genera mayor interacción proteína-proteína, y por tanto genera su precipitación, ya que la solubilidad de la proteína es mínima en ese punto (21). En semillas de moringa la fracción de proteína mayoritaria fueron las albúminas seguidas por las glutelinas y globulinas, siendo estas últimas las que presentan un mayor número de bandas de alto y bajo peso molecular (22).

Aislado de quinua: En el pseudocereal la quinua existe un sin número de investigaciones tanto de método de extracción como de las propiedades funcionales, (23) investigaron la extracción de proteína a pH de 2,5 y 3,5 siendo la solubilidad es moderada, así como a pH 5,5; 6,5 y 7,5 donde la solubilidad de las proteínas es mucho mayor. El método de punto isoeléctrico, es sencillo y de bajo costo, no altera el contenido de proteínas (totales y solubles) y es una alternativa tecnológica viable a nivel industrial (24). (18) analizan las condiciones para la extracción de proteína, propiedades físicas químicas en semillas de quinua, aislando a valor de pH alcalino 10, seguido de precipitación en un valor de pH ácido 4,5, obteniendo un mayor rendimiento de aislado. (24) obtuvo como resultados la quinua analizada tiene un contenido proteico de $14,15 \pm 0,28$ %; el aislado presentó cantidades de proteína total y soluble de $70,10 \pm 0,77$ % y $66,96 \pm 0,79$ mg BSA/mL respectivamente, en este tipo de pseudocereal debido a sus propiedades existe más fuentes bibliográficas de los métodos de extracción y análisis del punto isoeléctrico en comparación de otras fuentes de proteínas de origen vegetal.

Colza: En algunas investigaciones han analizado la colza, (25) aislaron proteína por el método extracción básica de las proteínas solubles seguido de una precipitación acida en el punto isoeléctrico pH 4,5 con etanol y acetona, obteniéndose un aislado proteico con un 86 % de proteína (26), en la investigación obtención y caracterización de aislados proteicos de colza analiza el mismo método de extracción básica de las proteínas solubles seguido de una precipitación acida en el punto isoeléctrico.

Arroz: El mayor rendimiento de extracción se obtuvo a pH 12,0 El contenido proteico del concentrado fue 66.9 ± 2.9 %, un pH (27).

Sacha Inchi: El investigador realiza una extracción de proteína a partir de la torta de Sacha Inchi en función al pH mostrando que a pH 9 se obtiene un mejor rendimiento, aumentando el rendimiento en condiciones alcalinas siendo el mejor rendimiento de $72,2 \pm 1,43$ % de proteínas extraídas a pH 12 (28). En otros estudios el rendimiento proteico obtenido de 69,25-79,52% en un rango de pH (1-12) (29). A pesar de haber extraído con el mismo pH y método existe ciertas diferencias en los rendimientos esto podría ser atribuida principalmente a la relación torta:

solvente y al grado de desnaturalización que sufrieron las proteínas durante la extracción de aceite debido a la fricción generada en la prensa (29).

Además, el pH del punto isoeléctrico determina en gran medida el color, valores de pH menor a 3 presenta tonalidades negras y pH mayores a 3 tonalidades cafés-grises, además el pH de extracción afecta en la concentración de proteína, a pH 5-11 obtuvieron un porcentaje de 62,86 (21). De una manera resumida podríamos decir que el punto isoeléctrico afecta en el rendimiento y algunas propiedades de las proteínas, y para conseguir una mayor precipitación, la proteína debe ser liberadas de las células vegetales que las contiene (30) utilizando solventes selectivos con respecto al soluto. Este método es uno de los más utilizados, debido a la facilidad de su implementación y los altos rendimientos obtenidos de proteína permitiendo la adecuada separación de sustancias no-proteicas.

CONCLUSIÓN

En la revisión bibliográfica de algunos estudios sobre la influencia del punto isoeléctrico en extracción de proteína de origen vegetal, tiene gran potencial debido a su empleo en investigaciones e industrias de alimentos y farmacéutica debido a su bajo costo y rendimiento de proteínas, sin embargo, será necesario estudios con una amplia gama de pHs y solventes aplicando a diferentes fuentes de proteínas, lo que se ha vuelto un tema de relevancia en los trabajos de investigación recientes con el fin de optimizar los procesos de extracción para incrementar su rentabilidad.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bedin, E., Torricelli, C., Gigliano, S., De Leo, R., & Pulvirenti, A. (2018). Vegan foods: Mimic meat products in the Italian market. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 13, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2018.04.003>
2. Shevkani, K., Singh, N., Kaur, A., Yu, L., & Chen, Y. (s.f.). Pulse proteins: secondary structure, functionality and applications. *Journal of Food Science and Technology*, 13(1-9). doi:<https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2018.04.003>
3. Badui, D. (2006). *Química de los alimentos*. México : Pearson.

4. Cervilla, N., Mufari, J., Calandri, E., & Guzmán, C. (2017). Determinación del contenido de aminoácidos en harinas de quinoa de origen argentino. *Evaluación de su calidad proteica. Actualización en nutrición*, 13(2), 107-113.
5. Tsou, M., Kao, F., Lu, H., & Chiang, W. (2013). *Purification and identification of lipolysis-stimulating peptides derived from enzymatic hydrolysis of soy protein*, 138(2-3), 1454-1460. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.10.149>
6. Oseguera, M. (2009). *Actividad antioxidante y Antiinflamatoria de hidrolizados de proteína de dos variedades de frijol común*. Universidad Autónoma de Querétaro.
7. Liadakis, G., Tzia , C., Oreopoulou, V., & THOMOPOULOS, C. (1995). Protein isolation from tomato seed meal, extraction optimization. *Journal of Food Science*, 60(3), 477-482.
8. Pszczola, D. (1998). The ABCs of nutraceutical ingredients. Food technology. *Food science technology*, 52(3), 30-37. Obtenido de <http://pascal-francis.inist.fr/vibad/index.php?action=getRecordDetail&idt=2186597>
9. TZENG, Y., Diosady, L., & Rubin, L. (1990). Production of canola protein materials by alkaline extraction, precipitation, and membrane processing. *Journal of Food Science*, 1147-1151. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1990.tb01619.x>
10. Nicanor, A., Moreno, A., Ayala, A., & Ortíz, G. (s.f.). Guava seed protein isolate: functional and nutritional characterization. *Journal of food biochemistry*, 21(1), 77-90. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1745-4514.2001.tb00725.x>
11. Nesterenko, A., Alric, I., Silvestre, F., & Durrieu, V. (2013). Vegetable proteins in microencapsulation: A review of recent interventions and their effectiveness. *Industrial crops and products*, 42, 469-479. doi:<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.06.035>
12. Vioque , J., Sanchez , R., Pedroche , J., & Yust, M. (2001). Obtención y aplicaciones de concentrados y aislados protéicos. *Grasa y Aceites*, 52(2), 127-131.
13. Callisaya, J., & Alvarado, J. (2009). Aislados Proteínicos de granos altoandinos Chenopodiaceas; quinua “Chenopodium Quinoa”-Cañahua “Chenopodium Pallidicaule”

- por Precipitación Isoeléctrica. *Revista Boliviana de Química*, 26(1), 12-20.
14. Badui, D. (2012). *La ciencia de los alimentos en la práctica*. Pearson Educación.
 15. Boher, B. (2017). Nutrient density and nutritional value of meat products and non-meat foods high in protein. *Trends in Food Science & Technology*, 65, 103-112. doi:<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.04.016>
 16. Garcia P. (2016). *Producción de hidrolizados proteicos con propiedades*. Universidad Autónoma de Madrid.
 17. UAM. (16 de 11 de 2018). Determinacion de Proteinas. Obtenido de <https://betovdm.wordpress.com/2012/04/08/practica-2-determinacion-de-proteinas/>.
 18. Elsohaimy, S., Refaay, T., & Zaytoun, M. (2015). Physicochemical and functional properties of quinoa protein isolate. *Annals of Agricultural Sciences*, 60(2), 297-305. doi:<https://doi.org/10.1016/j.aogas.2015.10.007>
 19. Shen, L., Wang, Z., & Wang, X. (2008). Studies on tea protein extraction using alkaline and enzyme methods. *Food Chemistry*, 107(2), 929-938. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.08.047>
 20. Garza, N., Koyoc, J., Castillo, J., Zambrano, E., Ancona, D., Guerrero, L., & García, S. (2017). Biofunctional properties of bioactive peptide fractions from protein isolates of moringa seed (*Moringa oleifera*). *Journal of food science and technology*, 54, 4268-4276. doi:54, 4268-1272. doi:<https://doi.org/10.1007/s13197-017-2898-8>
 21. Bocarando-Guzmán, M., Ríos, M., & Hernández, A. (2019). La moringa (*Moringa oleifera* Lam.): una fuente alternativa de proteína vegetal. *Academia Journals*.
 22. Zacarías, M., Mundo, M., Hernández, A., Barahona, M., & Cruz, V. (2019). ANÁLISIS DE SOLUBILIDAD Y PATRÓN ELECTROFORÉTICO DE PROTEÍNAS DE YACA (*Artocarpus heterophyllus*). *Revista Mexicana de Agroecosistemas*, 6(1), 28 – 36.
 23. Callisaya, J., & Alvarado, J. (2009). Aislados Proteínicos de granos altoandinos

- Chenopodiaceas; quinua “Chenopodium Quinoa”-Cañahua “Chenopodium Pallidicaule” por Precipitación Isoeléctrica. *Revista Boliviana de Química*, 26(1), 12-20.
24. Tapia, I., Taco, D., & Taco, V. (2016). Aislamiento de proteínas de quinua ecuatoriana (*Chenopodium quinoa* Willd) variedad INIAP Tunkahuan con remoción de compuestos fenólicos, para uso potencial en la nutrición y salud humanas. *Revista de La Facultad de Ciencias Médicas*, 41(1), 71-80.
 25. Goncalves, N., Vioque, J., Clemente, A., Sánchez, R., Bautista, J., & Millán, F. (1997). Obtención y caracterización de aislados proteicos de colza. *Grasas y Aceites*, 48(5), 282-289.
 26. Vioque, J., Sanchez, R., Pedroche, J., & Yust, M. (2001). Obtención y aplicaciones de concentrados y aislados protéicos. *Grasa y Aceites*, 52(2), 127-131.
 27. Maldonado, L., Latorre, K., Rocha, P., Medrano, A., Abirached, C., & Panizzolo, L. (2011). Influencia del pH en la estabilidad de emulsiones elaboradas con proteínas de salvado de arroz. *Revista laboratorio tecnológico de Uruguay*(6), 28-31.
 28. Jairo, I., González-Linares, M., Mari, M., Richer, M., & Oscar, W. (2017). Desarrollo de Películas Comestibles a partir de Proteínas Extraídas de la Torta de Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.). *Información tecnológica*, 28(5). doi:<http://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642017000500013>
 29. Chirinos, R., Aquino, M., Pedreschi, R., & Campos, D. (2017). Optimized methodology for alkaline and enzyme-assisted extraction of protein from sacha inchi (*Plukenetia volubilis*) kernel cake. *Journal of Food Process Engineering*, 40(2).
 30. Nelson, D., & Cox, M. (2001). *Lehninger Principles of Biochemistry*. Springer Nature, 6, 69–70. doi:<https://doi.org/10.1007/s00897000455a>