

Obtención de un hidrolizado enzimático de harina de chocho (*Lupinus mutabilis Sweet*) a partir de bromelina de piña

Vanessa Alexandra Navas Enríquez¹, Orestes Darío López Hernández²,
Dayana Cristina Morales Acosta³, Cecilia Mercedes Carpio³

¹ Área de Ciencias Naturales, Unidad Educativa San Pío X, Ambato, Ecuador

² Grupo de investigación AndesBioactivos, Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología, Universidad Técnica de Ambato, Ambato, Ecuador

³ Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología, Universidad Técnica de Ambato, Ambato, Ecuador
✉ od.lopez@uta.edu.ec

RESUMEN

Los hidrolizados han permitido dar un valor agregado a los alimentos con alta cantidad de proteínas como las leguminosas, debido a que mejoran la biodisponibilidad de sus proteínas, por lo cual, la finalidad de este trabajo fue obtener un hidrolizado enzimático de harina de chocho para lo cual se utilizó jugo de piña como fuente de la bromelina. Se estudiaron dos factores el pH entre 5.0 y 6.0 y la relación sustrato-agua entre 1/10 y 1/20. Se obtuvieron las ecuaciones de predicción para el rendimiento y el grado de hidrólisis medido en porcentaje de nitrógeno amínico. Las condiciones óptimas para la máxima deseabilidad de 87.3 % que fueron: pH 5, relación sustrato-agua 1/10.3 y 60 min para el tiempo de hidrólisis permitieron alcanzar 0.88 % de nitrógeno amínico, a partir de estas condiciones, se realizó un escalado a nivel industrial. Se realizó la caracterización del hidrolizado mediante electroforesis en gel de poliacrilamida en presencia de dodecil sulfato de sodio y cromatografía líquida de alta eficiencia, lo que permitió concluir que efectivamente la proteína se fraccionó en péptidos y como propiedad tecno-funcional mejoró su solubilidad pudiéndose aplicar el hidrolizado como ingrediente funcional.

Palabras clave: chocho, hidrólisis enzimática, bromelina, electroforesis, nitrógeno amínico

ABSTRACT

Obtention of an enzymatic hydrolyzate of Andean lupin flour (*Lupinus mutabilis Sweet*) from pineapple bromelain. Hydrolyzates have allowed adding value to foods with a high amount of proteins such as legumes because they improve the bioavailability of their proteins, therefore the purpose of this investigation was to obtain an enzymatic hydrolyzate from andean lupin flour. For which pineapple juice was used as the source of bromelain. Two factors were studied: pH 5.0 and 6.0; and substrate-water ratio 1/10 and 1/20. The prediction equations for the yield and the degree of hydrolysis measured as amino nitrogen percentage were obtained as well as the optimum conditions for the maximum desirability of 87.3 % which were pH 5.0, substrate-water ratio 1/10.3, and 60 min for the hydrolysis time allowed to reach 0.88% of amine nitrogen, from these conditions an scale up for industrial production was performed. The hydrolyzate characterization was carried out by sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis and high performance liquid chromatography, which allowed to conclude that the protein was fractionated in peptides and as a techno-functional property, its solubility improved and the hydrolyzate could be applied as a functional ingredient. chitosan concentration in both strains.

Keywords: aAndean lupin, enzymatic hydrolysis, bromelain, electrophoresis, amine nitrogen

How to cite (Vancouver style):

Navas-Enríquez VA, López-Hernández OD, Morales-Acosta DC, Carpio CM. Obtención de un hidrolizado enzimático de harina de chocho (*Lupinus mutabilis Sweet*) a partir de bromelina de piña. Biotecnol Apl. 2021;38(4):4211-5.

Introducción

En el mercado actual es de interés el aprovechamiento de la variedad de alimentos y subproductos con alto contenido proteico para transformarlos, proveerles de un valor añadido y ampliar su empleo en la industria [1]. Esto se debe a que las proteínas tienen ciertas propiedades funcionales y nutricionales que pueden servir para mejorar la calidad de productos alimenticios y farmacéuticos.

La hidrólisis es un proceso que permite mejorar la biodisponibilidad de proteínas de las leguminosas en comparación con los granos no procesados. Los hidrolizados son ingredientes funcionales [2] que tienen varias aplicaciones en el procesamiento de los alimentos. Algunos de ellos son fundamentales para la dieta

de personas con enfermedades, alergias e intolerancias que impiden la absorción adecuada de los aminoácidos, así como para mejorar la nutrición en los deportistas [3]. Los hidrolizados proteicos también sirven para mejorar características organolépticas de los alimentos.

El chocho es un grano andino con porcentaje de proteína cercano al 50 %. En Ecuador esta oleaginosa es cultivada en la región serrana y se la consume en un 80 % como grano desamargado sin someter a otro tipo de proceso [4].

Para la hidrólisis de proteínas hay algunos métodos, pero el que produce mayor cantidad de péptidos y aminoácidos es la hidrólisis enzimática [5], dife-

1. Drago SR, Luggren PJ, Vioque PJ, Betancur AD, Chel GL, González RJ. Propiedades bioactivas de hidrolizados de gluten de trigo. *OmniaScience Monographs*, Barcelona. 2013;1(0):83-109.

2. Razali A, Amin A, Sarbon N. Antioxidant activity and functional properties of fractionated cobia skin gelatin hydrolysate at different molecular weight. *Int Food Res J*. 2015;22(2):651.

3. Evangelho JA, Berrios JD, Pinto VZ, Antunes MD, Vanier NL, Zavareze ER. Antioxidant activity of black bean (*Phaseolus vulgaris* L.) protein hydrolysates. *Food Sci Technol (Campinas)*. 2016;36(1):23-7.



renciándola de la hidrólisis ácida que destruye a los aminoácidos como el triptófano [6]. Las enzimas que generalmente se utilizan son proteasas obtenidas mediante microorganismos. Sin embargo, las proteasas de fuentes vegetales no pueden ser reemplazadas, ya que se pueden utilizar directamente, sin necesidad de aislar, lo que conlleva a una disminución de tiempo y costos [7]. Dentro de este tipo de proteasas está la bromelina que es eficaz para obtener hidrolizados a nivel industrial [8].

La bromelina es extraída de la piña y comercializada en polvo [9]. No obstante, la pulpa de piña contiene esta enzima y podría aportar características organolépticas al hidrolizado, como un sabor dulce y cítrico, sin necesidad de añadir saborizantes ni edulcorantes artificiales.

El propósito de este estudio fue someter a la harina de chocho a un proceso que le dé un valor agregado, que incremente la absorción de las proteínas en el organismo y sirva como ingrediente funcional mediante la hidrólisis enzimática, aprovechando los beneficios que brinda la pulpa de piña y las propiedades nutricionales del chocho.

Materiales y métodos

Obtención de harina de chocho

El chocho desamargado y pasteurizado se adquirió en la empresa Indunevall (Ecuador). Se seleccionó los granos, se colocaron en mallas metálicas y se les secó a 60 °C durante 10 h en una cámara de secado. Se molió el chocho seco en un molino eléctrico, se tamizó la harina de chocho mediante un tamiz N° 100 y se colocó en bolsas plásticas con cierre hermético.

Condiciones de operación para el proceso de hidrólisis

Se utilizó una concentración de jugo de piña y harina de chocho en relación a 10 g de bromelina contenida en el jugo por cada kilogramo de harina. Para seleccionar esta relación se usó como referencia la información de una patente de invención [10].

Para la obtención del jugo, la piña se lavó, se peló y se retiró el corazón, se licuó la pulpa y se tamizó en un tamiz con una abertura de 0.177 mm.

Se estudió dos factores, la relación harina/agua con dos variaciones 1:10 y 1:20, es decir al 10 y 5 % de concentración de la harina respecto al agua, y el pH con los tratamientos a pH 5 y 6. Estas muestras se colocaron en un vaso de precipitación de 250 mL sobre una plancha de calentamiento con agitación. Se mantuvo la temperatura de las muestras en un rango de 55 a 60 °C en agitación mediante magnetos durante 2 h. El pH se ajustó con NaOH 0.1 mol/L y HCl 0.1 mol/L durante cada hora. Posteriormente se hirvió el hidrolizado durante 5 min.

Actividad enzimática

La actividad enzimática se calculó mediante la fórmula siguiente y se expresó en unidades de degradación de gelatina (GDU)/mL:

$$\text{Act. enzimática (GDU/mL)} = \frac{(T - B) \times 14 \times N}{V}$$

Donde:

N: Molaridad del NaOH utilizado en la titulación en mEq/mL.

T: mL de NaOH gastado en la muestra.

B: mL de NaOH gastado en el blanco.

14 = mg de Nitrógeno por masa equivalente de nitrógeno.

V: volumen de jugo de piña (mL).

Diseño experimental

Se realizó un diseño experimental de 22, cuyos factores fueron el pH (pH 5 y 6) y la concentración de sustrato con dos niveles, 1:10 y 1:20. Se halló la ecuación del modelo ajustado con el uso del programa Statgraphics versión 15.205, mediante el cual se seleccionaron las condiciones óptimas para la realización del hidrolizado de chocho. Se aplicó el método 95.0 por ciento LSD para el estudio de tiempo de hidrólisis.

Análisis del hidrolizado

Determinación de sólidos totales

Se pesó 3 g de muestra en la balanza de humedad (Kern, modelo MLS 50-3), y se obtuvieron los sólidos totales de la diferencia entre el 100 % y el porcentaje de humedad de la muestra.

Determinación de nitrógeno amínico

Se realizó mediante el método de Sorensen (referencia). Para ello se diluyó el hidrolizado de chocho con agua destilada hasta el 2 % v/v, se neutralizó con NaOH 0.1 mol/L y se agregó 2 mL de solución de formaldehído neutralizado. Se tituló la solución con NaOH 0.1 mol/L hasta alcanzar un pH entre 9.1 y 9.2. Las muestras se analizaron por duplicado.

Para el cálculo del nitrógeno amínico se utilizó la fórmula:

$$\text{N amínico (\%)} = \frac{V1 \times 1.4 \times k}{V2 \times 1000} \times 100 \times \frac{95}{st}$$

Donde:

V: mililitros de hidróxido de sodio en concentración 0.1 mol/L.

k: la concentración práctica dividida para la concentración teórica de la solución de NaOH.

st: porcentaje de sólidos totales de la muestra.

1.4: miligramos de nitrógeno que equivalen a 1 mL de NaOH 0.1 N.

1000: factor para transformar a gramos.

100: coeficiente de porcentaje

95: coeficiente para expresar el N amínico en base seca en relación al 95 % de sólidos totales.

Estudio del tiempo de hidrólisis

Se realizó el mismo proceso de hidrólisis con las condiciones óptimas utilizando un pH de 5 y relación sustrato/agua 1/10.3. Se tomó muestras para la determinación del nitrógeno amínico y los sólidos totales cada 30 min hasta llegar a 3 h. Las mediciones se realizaron por triplicado.

Elaboración del hidrolizado de chocho en laboratorio

Se realizó un ensayo a escala de laboratorio de la mejor variante del diseño, en el cual se siguió el mismo

4. Caicedo C, Peralta E, Villacrés E, Rivera M. Poscosecha y mercado de chocho (*Lupinus mutabilis Sweet*) en Ecuador. Boletín Técnico. INIAP Estación Experimental Santa Catalina, Programa Nacional de Leguminosas. 2001;105:37-4.

5. Thiansilakul Y, Benjakul S, Shahidi F. Antioxidative activity of protein hydrolysate from round scad muscle using alcalase and flavourzyme. J Food Biochem. 2007;31(2):266-87.

6. Lapierre H, Binggeli S, Sok M, Pellerin D, Ouellet D. Estimation of correction factors to determine the true amino acid concentration of protein after a 24-hour hydrolysis. J Dairy Sci. 2019;102(2):1205-12.

7. Aguilera C. Cinética de inactivación enzimática y de degradación de sabor en función de la temperatura en jugo de piña. Choluta: Universidad de las Américas Puebla; 2003.

8. Hernández M, Carvajal C, Márquez M, Bóez R, Morris H, Santos R, et al. Obtención de preparados enzimáticos a partir de tallos de piña (*Ananas comosus*) con potencialidades de uso en la biotecnología y la medicina. Rev CENIC Cienc Biol. 2005;36:12-3

9. Clavijo D, Portilla M, Parra, A. Cinética y extracción de la bromelina obtenida a partir de la piña (*Ananas comosus*) proveniente de Lebríja-Santander. Ciencia y Tecnología Alimentaria. 2011(cited 2020 Mar 5); 10(1). Available from: http://revistas.unipamplona.edu.co/ojs_viceminves/index.php/ALIMEN/article/view/99/0

10. Zhurbenko R, Rodríguez C, Varela A. Método de obtención de base nutritiva para el cultivo de microorganismos y producto obtenido. Patente Cuba. Certificado de Autor No. 22310. Oficina Cubana de la Propiedad Industrial; 2007.

proceso de hidrólisis durante una hora utilizando pH 5 y la relación sustrato-agua 1/10.3. Se colocaron 100 g de harina de chocho, 770 mL de jugo de piña y el agua en relación a la concentración del mejor tratamiento, hasta obtener 1.91 L de hidrolizado.

Secado del hidrolizado

El hidrolizado obtenido a escala de laboratorio se sometió a un proceso de secado por aspersión en un Mini Spray Dryer (Büchi, modelo B-290), con un porcentaje de aspiración del 100 %. La temperatura de entrada fue de 150 °C y la de salida de 85 °C. El flujo de aire de atomización fue de 500 L/h. Se utilizó un cepillo para retirar el hidrolizado en polvo del recipiente del equipo y se guardó el polvo en bolsas plásticas herméticas.

Escalado del proceso de obtención del hidrolizado a nivel industrial

Se realizó el proceso de hidrólisis de la harina de chocho en la Planta industrial Andes Kinkuna S.A., para lo cual se secó el chocho a 60 °C durante 10 h en una cámara de secado. Se procedió a moler el chocho seco desamalgado en un molino industrial eléctrico de cuchilla 9 modelo FC-260. Se utilizaron las condiciones de pH 5, relación sustrato/agua 1/10.3 según los mejores resultados del diseño experimental realizado. Para la obtención del jugo de piña se descascaró la piña manualmente con cuchillos de acero inoxidable y la pulpa se extrajo con un extractor de jugo en espiral. Se colocó el agua y la harina de chocho en un reactor de acero inoxidable, se añadió el jugo de piña y se ajustó el pH. Se procedió a calentar en un rango de 55 a 60 °C y se mantuvo en agitación durante una hora, después de la cual se hirvió la mezcla durante 5 min y se secó en un secador por aspersión industrial Spray Dryer TPG-100, bajo las mismas condiciones utilizadas en el laboratorio.

Electroforesis SDS-PAGE

Se extrajo la proteína del chocho mediante una precipitación ácida a pH 4.5. Se pesaron 10 mg de aislado de proteína de chocho y del hidrolizado por separado, se agregó 1 mL de agua destilada a cada tubo con una micropipeta de 1 mL. Se tomó una alícuota de 200 µL de las muestras, a los cuales se adicionó 200 µL de tampón. Para la preparación previa del tampón se mezclaron: 4.8 mL de agua destilada, 1.2 mL de Tris-HCl 0.5 mol/L, 1 mL de glicerol, 1.2 mL de SDS al 10 % y 0.6 mL de 2-mercaptoetanol. Los tubos se colocaron en una Microincubadora Labnet 24D a 90 °C durante 5 min y a 500 rpm. Se realizó el mismo proceso, pero con tampón sin 2-mercaptoetanol. Se prepararon dos geles de acrilamida, superior (4 %) e inferior (12 %), se colocaron 15 µL de las muestras y se corrió la electroforesis en un equipo Bio-Rad Power Pac Basic. Los geles se colocaron en colorante azul de Coomassie durante 2 h y bajo agitación.

Se destiñó el gel en una solución compuesta por 45 % de agua destilada, 50 % de metanol y 5 % de ácido acético, durante 24 h. Se compararon las bandas del aislado y del hidrolizado de chocho.

Cromatografía líquida de alta eficiencia HPLC

Se pesaron 10 mg de aislado de proteína y de hidrolizado de chocho, se añadió 1 mL de agua desionizada

con la micropipeta en cada tubo, producida en un MilliQ. Las muestras fueron agitadas en un vortex por 2 min, se centrifugaron a 13 000 rpm durante 5 min, se recogió el sobrenadante y se filtraron las muestras en viales.

Se utilizó un HPLC con dos fases móviles: agua miliQ y metanol. Estas fases pasaron a través de una columna de fase reversa C18 con un diámetro interno de 250 × 4.6 nm. El tiempo de análisis fue de 12 min y se trabajó en modo gradiente. Se inició con 0 % de metanol, el cual se incrementó progresivamente hasta un 70 % durante los primeros 5 min, y se mantuvo por 6 min hasta finalmente alcanzar 0 % de metanol.

Análisis proximal

Se tomaron muestras de 200 g del hidrolizado de chocho elaborado en la planta industrial y se enviaron al Laboratorio Multianalityca Cía. Ltda. (Ecuador), donde se brindan servicios de análisis químico y ensayos acreditados para los respectivos análisis de las muestras.

Resultados y discusión

En el jugo de piña se encontró que los valores de actividad enzimática correspondiente a la bromelina, estaban entre 0.043 y 0.044 GDU/mL. Los resultados para la optimización del nitrógeno amínico y la superficie de respuesta estimada, permitieron apreciar el pH y la concentración de sustrato óptimos para la elaboración del hidrolizado (Figura 1).

La actividad de la bromelina fue medida como unidades de digestión de gelatina por mL de jugo de piña. Una unidad hidroliza 1 mg de nitrógeno amino de la gelatina en 20 minutos, a pH 4.5 y 45 °C. Los valores de actividad de la bromelina fueron 0.043 y 0.044 GDU/mL. Sin embargo, no se ha encontrado reportes bibliográficos sobre la actividad enzimática en el jugo de piña, al comparar estos valores con la bromelina pura: 1400 GDU/mL [11], la actividad es muy reducida. Esto se debe a que mientras mayor proceso de purificación, mayor es la concentración de enzima [12], no obstante, el aporte que tiene el

Factor	Bajo	Alto	Óptimo
pH	5.0	6.0	5.0
Relación sustrato/agua	10.0	20.0	10.347

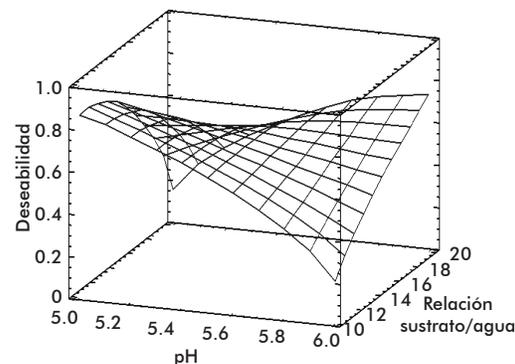


Figura 1. Optimización de la deseabilidad en relación al pH y a la concentración de sustrato. Imagen obtenida mediante el software Statgraphics versión 15.205.

11. Manzoor Z, Nawaz A, Mukhtar H, Haq I. Bromelain: Methods of extraction, purification and therapeutic applications. Braz Arch Biol Technol. 2016 (cited 2020 Mar 5);59. Available from: <https://www.scielo.br/j/babt/a/sqJsWgp9PVL9XN3k7R6yT5G/?lang=en&format=html>

12. Kaur T, Kaur A, Grewal R. Kinetics studies with fruit bromelain (*Ananas comosus*) in the presence of cysteine and divalent ions. J Food Sci Technol. 2015;52:5954-60.

jugo de piña en el hidrolizado es nutricional, funcional y organoléptico, por lo cual no puede ser reemplazado. Estas medidas se realizaron a dos piñas maduras con pH de 3.64 y 3.60 y grados brix de 15 y 14 °Bx, la unidad correspondiente a los sólidos solubles de azúcares en la piña, respectivamente. Estos valores se deben a que la piña madura contiene bromelina con menor actividad enzimática en comparación con la verde.

La utilización de piñas inmaduras supone una mayor actividad enzimática, sin embargo, también mayores costos al requerir mayor cantidad de fruta. Ello se debe a que en estado verde contiene menor concentración de la enzima en la pulpa (0.08 %) y mayor en la corona (0.14 %). En esto se diferencia de la que se encuentra en estado de madurez donde la bromelina se encuentra en mayor cantidad en la pulpa con un 0.13 % y en la corona con 0.04 % [13]. Por otro lado, un beneficio que tiene la piña madura es que aporta un sabor dulce y ácido al hidrolizado, mejorando su calidad organoléptica.

La deseabilidad se basa en optimizar el proceso para que tenga a la par un alto rendimiento y altos valores de nitrógeno amínico. Para esta optimización, se estudiaron los valores de pH de 5 y 6 debido a que a estos valores la bromelina tiene mayor estabilidad y actividad durante más tiempo, a pesar de que se reporta que el valor cercano a 7 tiene mayor actividad, pero solo durante los primeros 20 minutos [14]. La máxima deseabilidad fue de 0.872536 y los valores óptimos fueron pH 5.0 y relación sustrato-agua 1/10.347. La mayor concentración de nitrógeno amínico fue 1.14 % a los 180 min en comparación con el porcentaje bibliográfico de un hidrolizado enzimático de soya de 1.7 % y un hidrolizado de soya comercial de 1.5 % [15] hay una diferencia de 0.56 % y 0.36 % respectivamente.

Esta diferencia se debe a las distintas condiciones, tipo de enzima y sustrato, a pesar de que los valores no están tan alejados. Se seleccionaron estas condiciones óptimas para realizar el estudio de tiempo de hidrólisis, en el que hubo diferencia significativa entre los tiempos a 30, 60, 90, 120 y 150 min. Los grupos homogéneos fueron los de 150 y 180 min, la diferencia entre ellos fue de 0.035, inferior al límite de 0.053, por lo que no existe diferencia significativa entre ambos (Figura 2), esto se debe a que la enzima actúa sobre el sustrato y a medida que pasa el tiempo éste se va terminando. De estos tiempos se seleccionó 60 min debido a que el porcentaje de nitrógeno amínico es alto y es preferible no exponer al hidrolizado a un proceso que es favorable a la contaminación.

Para la caracterización del hidrolizado de chocho se realizó una comparación con la proteína aislada mediante electroforesis y cromatografía. La electroforesis es un método muy utilizado para la caracterización de proteínas [16]. Como se muestra en el gel de electroforesis de la figura 3, en el hidrolizado se pueden observar bandas muy finas en comparación con las bandas gruesas de la proteína aislada de chocho. La diferencia se debe a que hay una disminución de la concentración de proteínas ya que se han hidrolizado. También se observa la diferencia en la altura de las bandas, en el hidrolizado la migración llega hasta la parte inferior del gel, debido a que hay

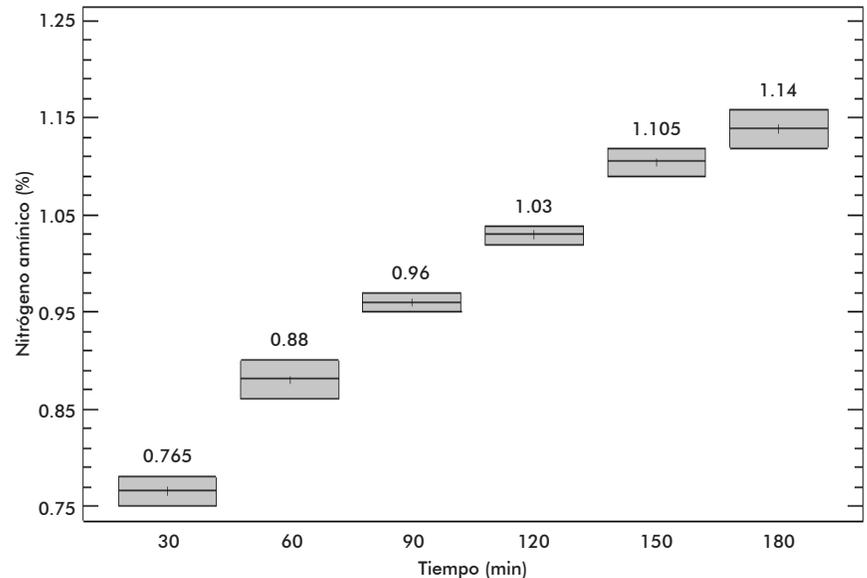


Figura 2. Relación entre porcentaje de nitrógeno amínico y el tiempo de hidrólisis. La imagen se generó con el software Statgraphics, versión 15.205. Los valores numéricos se corresponden con las medias de nitrógeno amínico (%) obtenidas mediante las Pruebas de Múltiple Rangos (Método: 95.0 % LSD), con dos casos y el empleo de grupos homogéneos para cada tiempo.

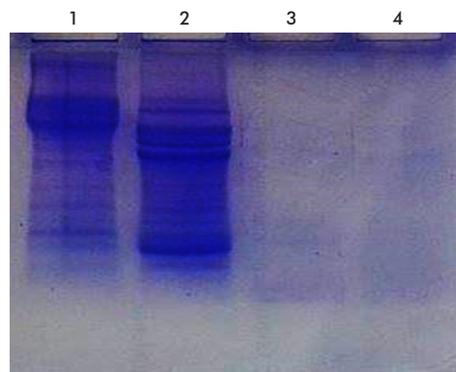


Figura 3. Electroforesis de la proteína aislada de chocho y del hidrolizado en gel de Poliacrilamida con dodecil sulfato de sodio. Carriles: 1, muestra de proteína sin tratamiento sin mercaptoetanol; 2, muestra de proteína sin tratamiento con mercaptoetanol; 3, hidrolizado con mercaptoetanol; 4, hidrolizado sin 2-mercaptoetanol. El gel de poliacrilamida se preparó con una zona de concentración al 4 % y otra de separación al 12 %.

un mayor peso molecular de las proteínas presentes en el chocho. Mientras tanto, al haberse sometido al proceso de hidrólisis, la ruptura de las moléculas hizo que los fragmentos tengan menor peso molecular. Por lo tanto se puede decir que el proceso fue efectivo. Sin embargo, hay que tomar en cuenta que la cantidad de proteína en el hidrolizado es menor que en el aislado, debido a que se usó todo el contenido de la harina para su obtención.

Como se observa en la figura 4, los picos del hidrolizado de chocho son de mayor tamaño que los de la proteína de chocho, lo que se puede asociar a que en la cromatografía se utilizó la parte soluble y

13. Lago IL, Varela JD, Cáceres FM. La bromelina: una proteasa de interés comercial. CYTA-J Food. 2008;18:4-2.

14. Carvajal C, Márquez M, Pérez A, Chávez M, Hernández M. Caracterización cinética de un preparado semipurificado de bromelina para uso antitumoral. Rev Cubana Plant Med. 2010;15(2):27-41.

15. Zhurbenko R, Rodríguez C, Díaz M, Durán A, López O, Viera D. Caracterización de la peptona de soya para el cultivo de microorganismos. Rev Cubana Med Trop. 2006 (cited 2020 Mar 5); 58(2). Available from: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602006000200003

las moléculas pequeñas de las muestras y el proceso de hidrólisis permitió que los péptidos tengan mayor solubilidad que la proteína nativa. Estos resultados corroboran a otras investigaciones que mencionan que la proteína hidrolizada de chocho puede alcanzar una solubilidad del 93 %, valor alto en comparación con la solubilidad en otras leguminosas [17]. Para que las propiedades tecno-funcionales de las proteínas cambien, se aplican procesos de hidrólisis y generalmente esto permite, entre otros cambios, que la solubilidad de las proteínas aumente [18], como sucedió en el hidrolizado de chocho. Esta mejora de la solubilidad se debe a que, al romperse los enlaces peptídicos, hay una mayor polaridad en las moléculas puesto que aumenta la cantidad de grupos carboxílicos y amidas en contacto con el solvente. De esta forma se incrementan las fuerzas intermoleculares como los puentes de hidrógeno formados por el oxígeno del ácido con el hidrógeno del agua [19]. Esta propiedad es estudiada debido a su utilidad, y se puede aplicar en productos en distintas presentaciones, incluidas las bebidas. Lo que se buscó en este análisis fue comparar los picos entre el hidrolizado y el concentrado, más no el perfil aminoacídico, para observar las diferencias entre ambas muestras y corroborar que la proteína había sido hidrolizada.

En cuanto al análisis proximal, los parámetros mostraron los valores siguientes: 11.11 % de grasas, 5.03 % de cenizas, 25.63 % de proteína (Factor de conversión para expresar el nitrógeno total como proteínas en cereales con valor 5.46), 58.23 % de carbohidratos y 394.50 kcal (Fuente: Multianalityca Cía. Ltda). El hidrolizado de chocho tiene un porcentaje de proteína menor al del chocho en base seca, debido a que se añadió jugo de piña que tiene baja cantidad de proteína y es alto en carbohidratos. Según Bueno y Rincón [20], la composición nutricional de la piña es proteína 0.53 %, grasa 0.11 % y carbohidratos 13.5 %. La cantidad de jugo añadido fue de 770 mL por cada 100 g de harina, por lo que la cantidad de carbohidratos en el hidrolizado fue 58.23 %, con un 11.11 % de grasa y 25.63 % de proteína. Esto es un beneficio, ya que, al utilizar el grano completo, la cantidad de nutrientes se mantiene, no hay desperdicios. Además, el jugo de piña con su sabor dulce debido a la glucosa, la fructosa y la sacarosa, su acidez gracias al ácido cítrico y málico y los componentes como magnesio y potasio [21], pueden aportar en la elaboración de un suplemento alimenticio a partir del hidrolizado.

Conclusiones

Se obtuvo un hidrolizado enzimático a partir de harina de chocho, tanto a nivel de laboratorio como a escala industrial, con el uso de jugo de piña como fuente de



Figura 4. Comparación de cromatogramas del hidrolizado y de la proteína de chocho. La cromatografía se corrió en una columna de fase reversa C18 con un diámetro interno de 250 × 4.6 nm, durante 12 minutos en modo gradiente de 0 a 70 % de metanol los primeros cinco minutos, y luego 6 minutos a hasta 0 %.

bromelina. Mediante un análisis y optimización de los factores pH y la relación sustrato-agua para el proceso de hidrólisis, se obtuvo un alto nivel de deseabilidad que equilibra el grado de hidrólisis y el rendimiento del proceso. Se determinó las condiciones óptimas para la hidrólisis enzimática de las proteínas que fueron a pH 5 y relación de sustrato- agua de 1:10.3, con una deseabilidad del 87.3 %.

Se realizó un escalado del hidrolizado de chocho a nivel industrial mediante las condiciones seleccionadas de la máxima deseabilidad, debido a que en una industria es importante optimizar rendimientos y garantizar un producto de calidad. Finalmente, se caracterizó cualitativamente el hidrolizado obtenido mediante electroforesis SDS-PAGE, que mostró una gran diferencia de los tamaños moleculares de la proteína y del hidrolizado, mucho menores en el hidrolizado ya que se obtuvieron moléculas más pequeñas como péptidos. Por cromatografía líquida de alta resolución se obtuvo un perfil cromatográfico de mayor tamaño y más definido para el hidrolizado en comparación con el de la proteína aislada de chocho, debido al incremento en la solubilidad de los péptidos, como una característica tecno-funcional del hidrolizado.

Agradecimientos

A la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos de la Universidad Técnica de Ambato por haber facilitado sus laboratorios y materiales.

Declaración de conflictos de interés

Los autores declaran la ausencia de conflictos de interés.

16. Castel MV. Estudio de las propiedades funcionales, tecnológicas y fisiológicas de las proteínas de amaranto. Tesis. Instituto de Tecnología de Alimentos, Facultad de Ingeniería Química, Universidad Nacional del Litoral, Argentina; 2010 (cited 2020 Mar 5). Available from: <http://bibliotecavirtual.unl.edu.ar:8443/handle/11185/212>

17. Quelal M, Nazate K, Villacrés E, Cuarán J. Obtaining and characterization of a quinoa protein hydrolyzate *Chenopodium quinoa* Willd. *Enfoque UTE*. 2019;10(2):79-89.

18. Benítez R, Ibarz A, Pagan J. Hidrolizados de proteína: procesos y aplicaciones. *Acta Bioquim Clín Latinoam*. 2008;42(2):227-36.

19. Camacho B, Moreno M, García D, Medina C, Sidorovas, A. Caracterización de un hidrolizado proteico enzimático obtenido del pez caribe colorado (*Pygocentrus cariba* Humboldt). 2007;32(3):188-94.

20. Bueno LL, Rincón BN. Aprovechamiento de piñas de segunda, para la obtención de un zumo de piña comercial. Tesis.

Universidad Tecnológica de Pereira. Programa de Especialización en Procesos Industriales Agroalimentarios; 2016 (cited 2020 Mar 5). Available from: <http://repositorio.utp.edu.co/dspace/bitstream/handle/11059/7390/664804774B928.pdf?sequence=1>

21. Ivanova N, Khomich L, Perova I, Eller K. Pineapple juice nutritional profile. *Voprosy Pitaniia*. 2019;88(2):73-82.

Recibido en mayo de 2021.

Aprobado en septiembre de 2021.