

OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE UN AISLADO PROTEICO A PARTIR DE TORTA DESENGRASADA DE PIÑÓN BLANCO (*Jatropha curcas* L.)

Obtaining and Characterization of a Protein Isolate from Defatted Cake of Physic Nut (*Jatropha curcas* L.)

Jorge A. Fasanando^(1,2), Richer Garay⁽¹⁾, Edison Hidalgo⁽¹⁾, Oscar Mendieta-Taboada⁽²⁾

(1) Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA) – Estación Experimental “El Porvenir”, Unidad Postcosecha y Agroindustria; Carr. Fernando Belaunde Terry Km.13.5, Juan Guerra, San Martín - Perú.

(2) Universidad Nacional de San Martín, Facultad de Ingeniería Agroindustrial.

(email: rgaray@inia.gob.pe; ehidalgo@inia.gob.pe; bogs_14@hotmail.com; oscarment@hotmail.com)

RESUMEN

La extracción del aceite de piñón, implica la producción de una gran cantidad de torta, la cual tiene entre sus principales componentes fibra y proteínas. De la torta, se pueden hacer abonos orgánicos o alimentos para el ganado, previa eliminación de las toxinas y el aceite restante presente en ella. Con el objetivo de determinar el efecto de las variables relación torta/solución extractora (1/5, 1/10 y 1/15), pH (9, 10 y 11) y tiempo de proceso (30, 60 y 90 minutos) sobre el rendimiento de extracción de las proteínas presentes en la torta desengrasada de piñón blanco, se realizaron ensayos a nivel laboratorio empleando un diseño compuesto central, siendo los resultados analizados empleando metodología de superficie de respuesta. La torta utilizada, desengrasada por el método Soxhlet, fue suspendida en solución de hidróxido de sodio con la finalidad de extraer las proteínas. La concentración de proteínas se determinó mediante el método de Biuret con lectura en espectrofotómetro a 545 nm. La proteína, precipitada con ácido clorhídrico fue lavada con agua destilada y finalmente secada. El secado del aislado proteico se llevó a cabo en estufa, a 80°C, durante 6 horas. Los resultados indicaron que los parámetros: relación torta/solución extractora de 1/5, pH 10 y tiempo de 30 minutos, fueron los más adecuados para alcanzar un buen rendimiento. Los análisis realizados a los aislados proteicos obtenidos con estos parámetros, presentan resultados similares a los reportados en otros estudios realizados con diferentes materias primas vegetales.

Palabras clave: *Jatropha curcas* L., pH, rendimiento, aislado proteico, torta desengrasada.

ABSTRACT

The physic nut oil extraction, leads to the generation of a large amount of cake, which has as its main component fiber and protein. Cake can be made organic fertilizer or animal feed after removal of toxins and the remaining oil present in it. At present the defatted cake is used as a byproduct of low added value, mainly for livestock feed. With the aim of determining the effect of the variables: relation cake/buffer solution (1/5, 1/10 and 1/15), pH (9, 10 and 11) and processing time (30, 60 and 90 minutes) on the efficiency of extraction of the proteins present in the defatted cake of physic nut, tests were conducted at laboratory using a central composite design, the results were analyzed using response surface methodology. The cake used, defatted by the Soxhlet method was suspended in sodium hydroxide solution in order to extract the proteins. The protein concentration was determined by the Biuret method with spectrophotometer reading at 540 nm. The protein was precipitated with hydrochloric acid, washed with distilled water and dried. Drying of protein isolate was carried out in an oven at 80 ° C for 6 hours. The results indicated that the parameters: the ratio cake/extracting solution of 1/5, pH 10 and time 30 minutes,

were most suitable for achieving a good yield. Analyses of protein isolates obtained from these parameters, show similar results to those reported in other studies with different plant materials.

Keywords: *Jatropha curcas* L., pH, yield, protein isolate, defatted cake.

INTRODUCCIÓN

En el Perú el fruto de *Jatropha curcas* L., comúnmente conocido como piñón blanco, es empleado para la extracción de aceite destinado a la producción de biocombustible. La torta resultante de la extracción de aceite debido a diversos principios tóxicos que contiene, incluyendo lectina (curcina, ésteres de forbol, saponinas, inhibidores de proteasas y fitatos, solamente podría ser utilizada en la nutrición animal o humana previo tratamiento (Saetae et al., 2011) ya que la composición de los aminoácidos, el porcentaje de aminoácidos esenciales y el contenido de minerales de la torta resultante de la extracción de aceite, son comparables a los de tortas similares utilizadas como forraje. Existen variedades que no son tóxicas, cuyo empleo en la alimentación humana es prometedor, además que presentan un contenido de proteína entre 27–32%, el cual aumenta hasta un 90% al someterla a tratamientos de solubilización y precipitación, obteniendo concentrados proteínicos que al ser sometidos a hidrólisis enzimática, generan hidrolizados, que contienen proteínas de bajo peso molecular, aminoácidos y péptidos (Martínez 2006).

La Región San Martín es una de las regiones con mayor cantidad de áreas deforestadas por los cultivos tradicionales, además de la tala ilegal. Frente a este peligro, el cultivo de piñón es una alternativa para el productor de la región. Se cuenta con un área instalada de cultivo de piñón de 580 has en 9 provincias, con 268 beneficiarios, siendo la Empresa Verdal RSM Perú SAC la que cuenta con la mayor extensión del cultivo (157.4 has instaladas) y la provincia de Picota es la que posee la mayor extensión con 353.5 has y cosecha de 5230 Kg de semillas; además, la extracción del aceite da lugar a la generación de una gran cantidad de torta como sub producto.

La planta de piñón blanco es un cultivo que no interfiere con la producción de alimentos, puede ser opción viable en proyectos de energías renovables porque ofrece ventajas adicionales sobre otros cultivos.

Los objetivos del presente trabajo fueron determinar las condiciones adecuadas para la extracción de proteína de torta desengrasada de piñón, considerando como variables independientes la relación torta/solución extractora, pH y tiempo de extracción, definir la cinética de extracción de proteínas y determinar la composición físico-química del aislado proteico obtenido.

MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar de ejecución

El presente trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Postcosecha y Agroindustrias de la Estación Experimental Agraria "El Porvenir", Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA), evaluaciones complementarias se efectuaron en el Laboratorio de Análisis de Alimentos de la Facultad de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Nacional de San Martín.

Materia prima

La materia prima utilizada fue la torta de Piñón (*Jatropha curcas* L.) obtenida del Programa Nacional de Investigación en Agroenergéticos de la Estación Experimental Agraria "El Porvenir".

Obtención del aislado proteico

Se realizó el desengrasado de la torta de piñón, en equipo Soxhlet, con éter de petróleo como solvente. La torta desengrasada fue molida, en mortero, para eliminar las partículas groseras y facilitar la extracción. Los ensayos de extracción de proteínas se realizaron suspendiendo 10 gramos de torta desengrasada en distintos volúmenes de agua (50, 100 y 150 ml) y ajustando el pH a valores 9, 10 y 11, con solución de NaOH 0.1N, bajo agitación. Los tiempos de extracción empleados fueron 30, 60 y 90 minutos. Transcurrido el tiempo de extracción, los residuos insolubles fueron separados mediante filtración. Para la precipitación de las proteínas se adicionó, gota a gota y bajo agitación suave, ácido clorhídrico 2N al filtrado colectado en el paso anterior, hasta alcanzar el punto isoeléctrico de las proteínas, caracterizado por la aparición de un color lechoso, y dejando en reposo por 5 minutos. Luego de la precipitación de las proteínas de piñón, se eliminó el sobrenadante. El lavado de las proteínas precipitadas se realizó con 100 ml de agua destilada, por tres veces. Finalmente, el aislado de proteínas fue puesto en placas Petri y secado en estufa, a temperatura de 80°C, por 6 h, determinándose el peso final. El concentrado proteico fue recuperado de las placas Petri, pesado, cuantificándose el contenido de proteína. La materia seca recuperada se calculó dividiendo el peso de aislado proteico obtenido entre el peso de torta desengrasada inicial, mientras que la proteína recuperada fue calculada dividiendo los gramos de proteína en el aislado obtenido entre gramos de proteína en 10 g de torta.

Preparación de la muestra. El principio de precipitación isoeléctrica fue usado para la obtención del aislado proteico. La suspensión de torta de piñón fue preparada disolviéndola en agua destilada. La relación sólido/agua fue de 1/5, 1/10 y 1/15 (w/v). El pH de la suspensión fue ajustado a 9, 10 y 11 con solución de NaOH 0.1 N.

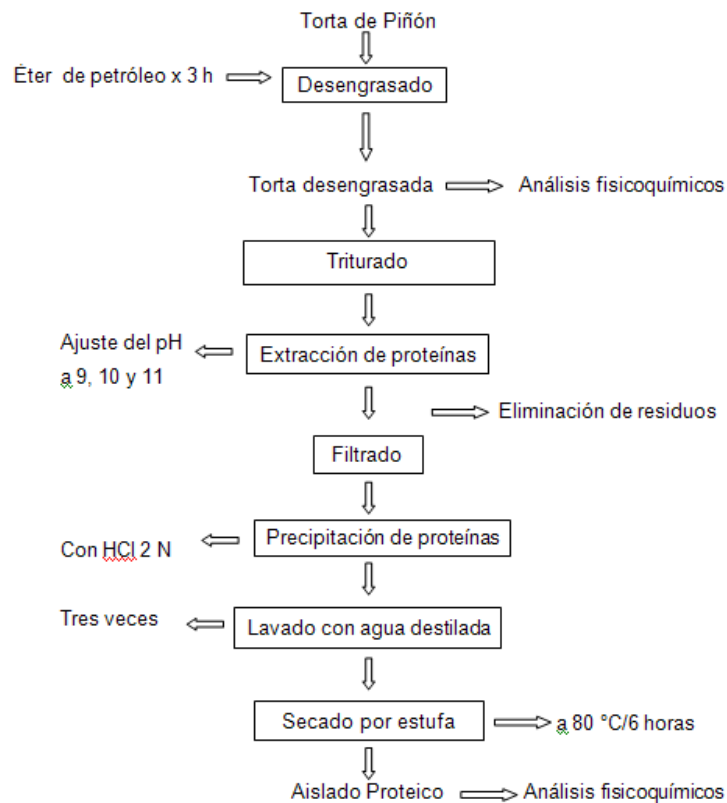


Fig. 1. Obtención de Aislado Proteico

Cinética de extracción de proteína

Para la determinación de las curvas de cinética de extracción de proteína de piñón, bajo las diferentes condiciones consideradas, fueron tomadas muestras de 1ml de suspensión cada 10 minutos hasta llegar a los 60 minutos, y luego cada 15 minutos hasta alcanzar el tiempo máximo de 90 minutos. Para la determinación de la concentración de proteínas fue utilizado el método de Biuret, efectuando lecturas de absorbancia a 545 nm en espectrofotómetro (Spectronic 21D Milton Roy), y calculando la concentración (g/ml) a partir de la curva patrón previamente trazada empleando proteína de suero bovino (Himida Lab.).

Diseño Experimental y Análisis de datos

Con la finalidad de establecer las condiciones adecuadas para extraer la mayor cantidad de proteínas de piñón, fue utilizado un diseño compuesto central considerando como variables independientes a la relación de extracción, pH y el tiempo de extracción, mientras que la variable dependiente fue la cantidad de proteína extraída. El análisis de datos fue realizado aplicando Metodología de superficie de respuesta (RSM) con el programa STATÍSTICA 6.0, mediante el cual se analizaron los datos de la relación de extracción, el pH de extracción y el tiempo de proceso, con un diseño compuesto central. El diseño experimental utilizado, incluyendo las variables reales y codificadas se presenta en el Cuadro 1. Los experimentos fueron realizados al azar para minimizar los efectos de una variabilidad inexplicable en la respuesta observada debido al error sistemático.

Análisis físico-químicos

Las determinaciones de humedad y cenizas totales fueron realizadas por los métodos de la AOAC (1995). Proteína total, grasa total, fibra y acidez titulable fueron determinadas con los métodos recomendados por la AOAC (1990). El contenido de carbohidratos fue calculado por diferencia.

Cuadro 1: Diseño compuesto central con valores reales y codificados

N° Experimento	Relación torta/solución		pH extracción		de Tiempo extracción		de Proteína extraída (g/ml)
1	1/5	-1	9	-1	30	-1	3.09
2	1/5	-1	9	-1	60	0	3.30
3	1/5	-1	9	-1	90	1	3.03
4	1/10	0	10	0	30	-1	2.33
5	1/10	0	10	0	60	0	2.43
6	1/10	0	10	0	90	1	2.35
7	1/15	1	11	1	30	-1	1.19
8	1/15	1	11	1	60	0	1.20
9	1/15	1	11	1	90	1	1.29

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis físico-químicos

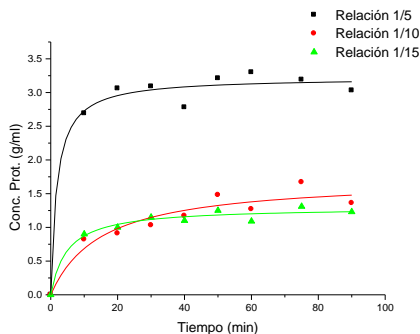
Los resultados de los análisis físico-químicos, de torta y aislado, se muestran en el Cuadro 2. Puede verse que la torta tuvo un contenido de aceite de 10.50% y de proteína de 22.9%, valores similares a los reportados por Saetae et al. (2011). En cuanto al aislado proteico, podemos notar que con respecto al aceite, se obtuvo menor porcentaje que el reportado por Saetae et al. (2011), lo cual puede significar que la presencia de los ésteres de forbol es inferior en el aislado obtenido ya que su presencia está relacionada de manera directa con el contenido de aceite; sin embargo, fue un tanto más alto que el reportado por Makkar et al. (2008). El contenido de proteínas en el aislado obtenido fue 79.34%, y se encuentra cercano al valor reportado para piñón por Makkar et al. (2008) de 82.0% y es mayor que el determinado por Aremu et al. (2007), para anacardo, de 69.6 %.

Cuadro 2. Composición físico-química promedio de torta de semilla de piñón y aislado proteico

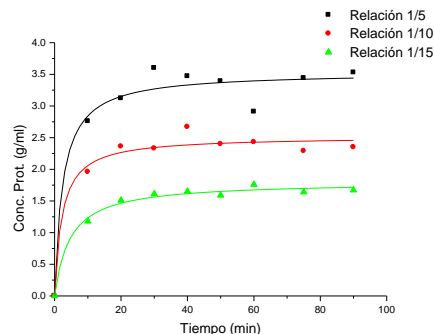
Componente	Torta de piñón (%)	Aislado proteico de piñón (%)
Grasa	10.50	0.45
Fibra	36.18	1.48
Ceniza	5.67	3.80
Proteína	22.90	79.34
Agua	7.93	10.82
Carbohidratos	16.82	2.63

Cinética de extracción

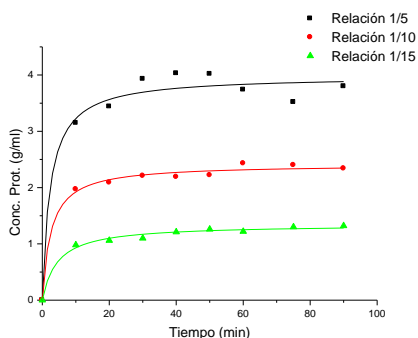
En la Fig. 2 se observa el efecto de la relación de extracción de proteínas para los valores de pH (9, 10 y 11) utilizados. Se observa que la concentración de proteína extraída se incrementa rápidamente en los primeros 30 minutos de proceso, mientras que superado este tiempo los incrementos en la cantidad de proteína extraída son cada vez menores, presentando tendencia a hacerse constantes. De otro lado, podemos notar que la concentración de proteína extraída se incrementa ligeramente con el aumento del valor de pH (valores 10 y 11). También, para todos los casos, puede verse que la relación de extracción que permite obtener mayor concentración de proteína extraída corresponde a la relación de 1/5, siendo menores las concentraciones correspondientes a las relaciones de extracción de 1/10 y 1/15.



(a)

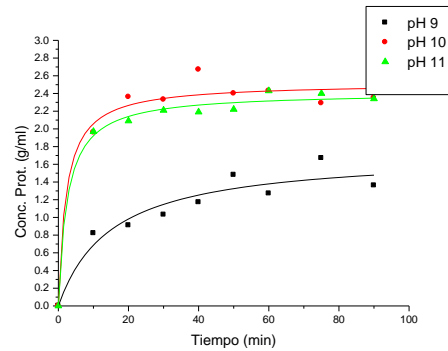
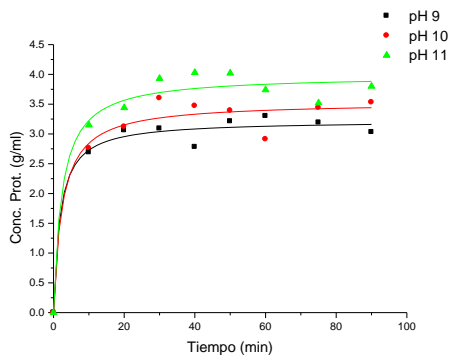


(b)



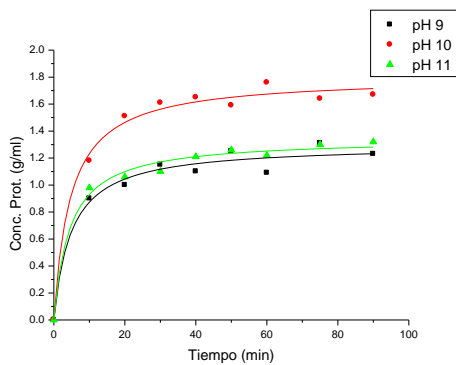
(c)

Fig. 2. Efecto de la relación de extracción sobre la concentración de proteína extraída de piñón:(a) pH 9, (b) pH 10 y (c) pH 11



(a)

(b)



(c)

Fig. 3. Efecto del pH sobre la concentración de proteína extraída de piñón para diferentes relaciones de extracción(a) 1/5, (b) 1/10, (c) 1/15

En la Fig. 3 se presenta el efecto del pH sobre la cantidad de proteína de piñón extraída para las diferentes relaciones de extracción (1/5, 1/10 y 1/15) empleadas. Puede verse que la velocidad de extracción de proteína es mayor para los primeros 30 minutos de proceso, tendiendo a hacerse constante para mayores valores de tiempo. También puede verse, para los diferentes valores de relación de extracción, que la mayor concentración de proteínas extraídas se obtiene para pH 10, comportamiento concordante con lo reportado por De Song et al. (2010).

Superficie de Respuesta

En la Fig. 4 se presenta la superficie de respuesta en función a las variables pH y relación de extracción. Puede verse que la mayor concentración de proteína obtenida se alcanza cuando el pH está en torno a los valores codificados 0.0 y 1.0, correspondientes a los valores reales de 10 y 11, respectivamente. Lo que indica que mayor concentración de proteína se obtiene al extraer con valores elevados de pH.

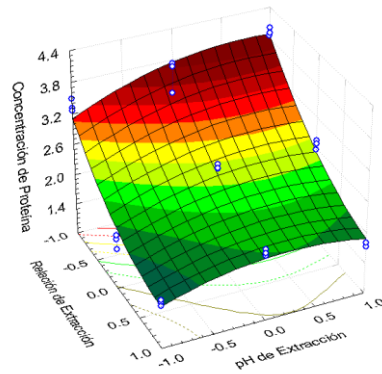


Fig. 4. Efecto del pH y Relación de extracción sobre la concentración de proteína extraída de piñón

El efecto de Relación y Tiempo de extracción se presenta en Fig. 5. Puede observarse que la mayor concentración de proteína extraída se puede obtener trabajando con relación de extracción de 1/5, correspondiente al valor codificado de -1.0. Por lo tanto, es conveniente trabajar con bajas relaciones de extracción porque es posible extraer mayor cantidad de proteína.

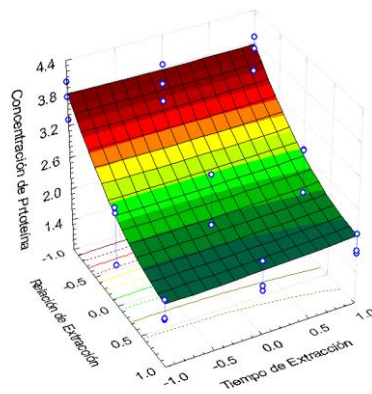


Fig. 5. Efecto de la relación y tiempo de extracción sobre la concentración de proteína extraída de piñón

En la Fig. 6 se muestra el efecto de pH y tiempo de extracción sobre el contenido de proteína extraída de piñón. Puede notarse que la mayor concentración de proteína extraída está comprendida entre los valores codificados de -1.0 y 1.0, correspondientes a los valores reales de 30 y 90 minutos. Este resultado indica que no hay diferencias significativas entre los valores de tiempo considerados, y que daría igual realizar la extracción a 30 minutos que a 90 minutos.

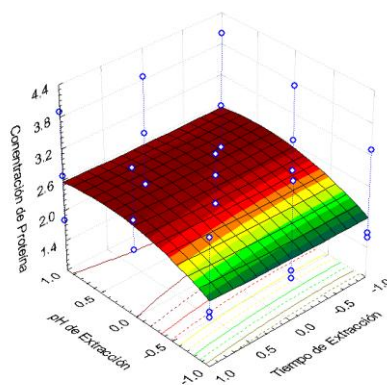


Fig. 6. Efecto del pH y Tiempo de extracción sobre la concentración de proteína extraída de piñón

Rendimiento de extracción de proteínas

El rendimiento de extracción de proteínas en este estudio fue 8.67%, el cual es menor al 88.2% por Saetae et al. (2011) para piñón, y 85.29% por Rustom et al. (1991) para maní; sin embargo fue mayor al 4.06 % reportado por Makkar et al. (2008) para piñón.

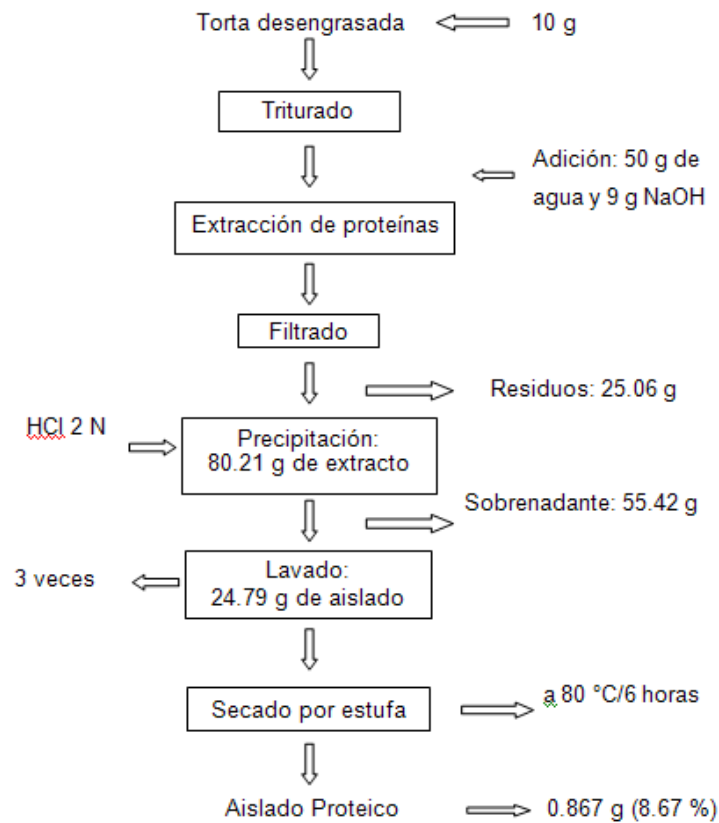


Fig. 7. Balance de masa del proceso

CONCLUSIONES

La cinética de extracción de proteínas permite concluir que para obtener un mayor contenido de proteína extraída se debe emplear relación de extracción de 1/5, valores elevados de pH (10) y tiempo de 30 minutos.

Con las condiciones anteriores de extracción se obtuvo un 34.64% de rendimiento de extracción de proteína y 79.34% de contenido de proteína en el aislado proteico.

AGRADECIMIENTO

El presente trabajo se realizó con el financiamiento del Fondo de Innovación para la Ciencia y Tecnología – FINCyT, contrato 030, Tarapoto, San Martín, Perú.

REFERENCIAS

- Aremu, M. O., Olonisakin A., Ogunlade I. 2007. Fatty Acid and Amino Acid Composition of Protein Concentrate from Cashew Nut (*Anacardium occidentale*) Grown in Nasarawa State, Nigeria. *Pakistan Journal of Nutrition* 6 (5): 419-423.
- De-Song, T. Y. J., Tian He, Y. Z., Lin L., Hu Song, Q. y Li B. 2010. Optimisation of Ultrasonic-assisted Protein Extraction from Brewer's Spent Grain. *CzechJ. Food Sci.* 1: 9.17,.
- Makkar HPS, Selje-Assmann N, Hoffmann E. M, Francis G, and Becker K. 2007. Quantitative and qualitative analyses of seed storage proteins from toxic and non-toxic varieties of *Jatropha curcas* L. *J. Sci. Food Agr.* 124, pp 625.
- Makkar HPS, Francis G, Becker K. 2008. Protein concentrate from *Jatropha curcas* screw-pressed seed cake and toxic and antinutritional factors in protein concentrate. *J. Sci. Food Agr.* 88: 1542-1548.
- Martínez, J. 2006. Caracterización Genético, Nutricional y No nutricional de *Jatropha curcas* L. de México. Tesis de doctorado, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, México.
- Rustom, .I. Y. S., López-Leiva, M.H., and Nair, B.M. 1991. A study of factors affecting extraction of peanut solids with water. *Food Chem.* 42: 153.
- Saetae D, Suntornsuk W. 2011. Antifungal activities of ethanolic extract from *Jatropha curcas* seed cake. *J. Microbiol. Biotechnol.* 20: 319- 324.