HORIZONTES TRANSDISCIPLINARIOS

Revista Digital de Divulgación y Difusión Científica

DIÁLOGOS HORIZONTALES PARA EL DESARROLLO SOSTENIBLE DE LA REGIÓN PACÍFICO SUR (CHIAPAS, OAXACA Y GUERRERO)









DESARROLLO Y PROCESOS CIENTÍFICOS Y TECNOLÓGICOS





Desarrollo de un proceso para la producción de ingredientes funcionales de proteína de frijol

Arturo Alfaro¹, Filiberto Ramírez¹ y Luis Mojica¹*

- ¹Tecnología Alimentaria, Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A. C., CIATEJ, 44270, Guadalajara, México.
- * Autor de correspondencia: Luis Mojica, lmojica@ciatej.mx

Palabras clave:

Proteína vegetal, ultrafiltración, industria mexicana, extracción de proteína.

Resumen

Debido a su composición, el frijol podría ser una fuente alternativa de proteína para atender la demanda de productos a base de proteína vegetal en México. Sin embargo, es necesario el desarrollo tecnológico para su aprovechamiento integral y el desarrollo de ingredientes de valor agregado como aislados y concentrados de proteína, pigmentos, fibras y almidones. En este trabajo se investigaron condiciones de hidratación y secado para descascarillar frijol. Se evaluaron los efectos de la relación soluto/solvente, temperatura y extracciones consecutivas, sobre la eficiencia de extracción de proteína de frijol. El extracto de proteína se concentró por ultrafiltración determinando las condiciones de operación del equipo. Los resultados muestran condiciones de proceso para el descascarillado, extracción y concentración de proteína de frijol. Esta investigación puede servir como punto de partida para la industrialización del frijol como fuente de ingredientes para la industria de los alimentos más allá de su uso como producto de consumo directo.

Introducción

El rápido incremento en la población mundial, los cambios sociodemográficos de países en vías de desarrollo y el aumento en la popularidad de dietas con alto contenido de proteína han generado un incremento mundial en la demanda de proteínas vegetales. En los últimos 50 años, a nivel mundial, el promedio de consumo de proteína pasó de 62 a 83 gramos al día por cada habitante (Henchion *et al.*, 2021). La búsqueda de fuentes alternativas de proteínas obedece a una necesidad nutricional, ecológica y social que busca la sustentabilidad a largo plazo.

De acuerdo con líderes de la industria alimentaria mexicana, en México, el valor de mercado de los productos elaborados a partir de proteínas vegetales crece a una tasa superior al 20% anual (Echeverría, 2021). Para satisfacer la demanda de este sector se necesita desarrollar tecnología a nivel local, ya que uno de los efectos principales de la reciente pandemia global de la COVID-19 fue la necesidad de reordenar las cadenas de suministro de bienes, que debe privilegiar la autosuficiencia regional de los productos de consumo para disminuir la dependencia de las importaciones y sus complicaciones logísticas en tiempos de contingencia (Sánchez-Suárez *et al.*, 2021).



En este sentido, el frijol surge como un recurso regional para la producción de proteína de origen vegetal, debido a que posee un contenido relevante de proteína (cercano al 20% de su peso), a su bajo costo y a su amplia disponibilidad en la región. Por otro lado, las proteínas de frijol no están consideradas por agencias gubernamentales regulatorias como la Food and Drug Administration (FDA) como un ingrediente potencialmente alérgeno, como sí lo son proteínas provenientes de otras fuentes convencionales como soya, cacahuate o trigo (Boye *et al.*, 2010).

El desarrollo de ingredientes altos en proteína a partir de frijol es una oportunidad de negocio debido a que en el país la mayor parte de las fuentes alternativas de proteína son importadas. Sin embargo, el establecimiento de una industria de ingredientes alrededor de esta leguminosa requiere de la innovación en procesos que, además de obtener sus proteínas, se aproveche integralmente toda la semilla mediante el desarrollo de otros ingredientes de interés para la industria alimentaria, como son pigmentos naturales, harinas, almidones y fibras. El descascarillado de frijol es el primer paso en la separación de sus dos principales componentes: cascarilla y cotiledón. De la cascarilla se pueden obtener los pigmentos que pueden funcionar como colorantes naturales y antioxidantes, mientras que de los cotiledones se extraen harinas suaves, proteínas y sus derivados, almidones, entre otros compuestos de interés (Los *et al.*, 2018).

Los procesos para la extracción de proteína de frijol deben ser eficientes para aumentar los rendimientos, y que el producto final presente niveles de pureza de acuerdo con su potencial aplicación en la industria de alimentos. No obstante, es prioritario que las tecnologías de obtención sean escalables a nivel industrial. Una de las propuestas tecnológicas de vanguardia para la obtención y purificación de proteínas es la ultrafiltración. Esta tecnología se usa en la separación de moléculas, de acuerdo con su tamaño, a un nivel muy fino. De manera práctica, en el caso de las proteínas, permite concentrar, purificar y desmineralizar soluciones de estos polímeros (Van-Reis & Sydney, 2010). Empresas como "Merittm Functional Foods", con sede en Canadá, actualmente basan sus métodos de producción en esta tecnología obteniendo proteínas de chícharo y canola con alta pureza, solubilidad y sin dejar un sabor remanente en los productos finales.

Dicho lo anterior, en la obtención de proteína de frijol como nuevas fuentes de proteína vegetal se deberán contemplar importantes retos, como con el establecimiento y desarrollo de cadenas de valor productivas, garantizar su inocuidad, establecer procesos escalables y eficientes de producción, así como permear en la aceptación cultural y sensorial por parte de los consumidores. El objetivo de este trabajo fue encontrar condiciones de proceso para el descascarillado de frijol, la extracción de proteína y su concentración por ultrafiltración.

Metodología

Proceso de obtención de concentrado de proteína de frijol

En la Figura 1a se representa un diagrama del proceso para la obtención de concentrado de proteína de frijol, este proceso cuenta con una solicitud de patente por el expediente Mxa2019011175 "CONCENTRADO DE PROTEÍNA DE FRIJOL Y SU PROCESO DE OBTENCIÓN". De manera breve se describe el proceso. Primero se debe seleccionar y descascarillar la materia prima. Una vez obtenidos los cotiledones limpios, estos pueden o no ser sometidos a un tratamiento térmico, previo a la obtención de una harina fina. Después, la harina se solubiliza en un medio alcalino (pH 9-10) para realizar la extracción de proteína. Posteriormente, se separan las fases por centrifugación para obtener un extracto soluble de proteína (sobrenadante) y una fase sólida más rica en carbohidratos (precipitado). El extracto, a partir de este punto, se somete a un proceso de concentración por ultrafiltración, en el cual se eliminan agua y sales minerales. Durante la ultrafiltración obtenemos dos fases: el retenido, que es donde se concentran las proteínas de interés y el permeado, donde se eliminan agua, sales y



pequeñas cantidades de proteínas de bajo peso molecular. Una vez que se logra la concentración y desmineralización requerida, el retenido (rico en proteínas) es ajustado a un pH neutro y secado por aspersión para obtener un polvo fino de aspecto blanquecino (Figura 1b).

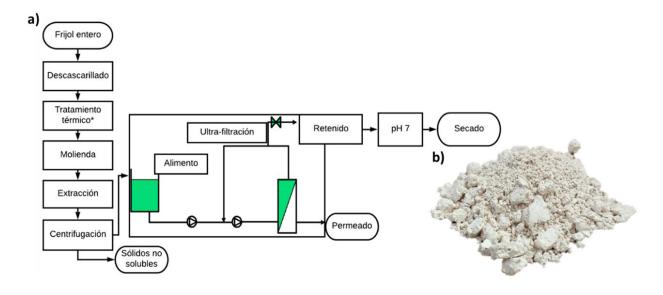


Figura 1. a) Diagrama del proceso de obtención de concentrados de proteína de frijol. b) concentrado de proteína de frijol en polvo *El tratamiento térmico puede ser un proceso opcional.

Descascarillado

Para desarrollar un proceso de descascarillado eficiente y escalable se evaluaron dos condiciones de proceso. Primero, previo a un remojo de 4 horas, se evaluó el efecto de un tratamiento de escaldado (inmersión en agua hirviendo por 2 minutos) en el frijol sobre el porcentaje de captación de agua. Posteriormente, se realizó una cinética de secado a 50°C para determinar el tiempo en el que el frijol pierde el excedente de humedad. Estos dos procesos (remojo y secado) son indispensables para generar una textura quebradiza de la cascarilla y poder separarla del cotiledón con la ayuda de una descascarilladora.

Extracción de proteína

Para obtener las condiciones de proceso que permitieron conseguir los mejores rendimientos de extracción de proteína de frijol se realizaron tres experimentos. En todos los experimentos se trabajó con harina de frijol descascarillado crudo o cocido a presión por 10 min. El primer experimento consistió en observar el comportamiento de la solubilidad de la proteína en medios acuosos entre pH 2 (ácido) y 12 (alcalino). El segundo experimento evaluó el efecto de realizar hasta tres extracciones secuenciales. Esto quiere decir que el precipitado producto de la primera extracción fue solubilizado y se extrajo proteína nuevamente en otras dos ocasiones. El tercer experimento consistió en evaluar los efectos de la cocción, la temperatura de extracción (25, 60 y 90°C) y la relación soluto/solvente (1:10 y 1:20) sobre el porcentaje de eficiencia de extracción. La concentración de proteína soluble fue determinada por el método de "Lowry" y se calculó el porcentaje de extracción tomando como 100% la proteína total del frijol que fue de 21.9 g de proteína/ 100 g de frijol.



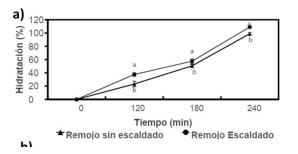
Concentración por ultrafiltración

El extracto de proteína (crudo y cocido) fue concentrado por ultrafiltración usando una membrana con un corte de 5 kDa. Se utilizó esta membrana debido a que la mayor parte de las proteínas tienen un peso molecular superior y son retenidas. Con la finalidad de establecer las mejores condiciones de operación se determinó la presión transmembrana crítica (TMPc). Para establecer este parámetro se midió el efecto del incremento de la presión transmembrana (TMP) (cada 5 psi) sobre el flujo de permeado (mL/min). La TMPc se determinó como el punto de inflexión en donde los incrementos de flujo se reducen por cada unidad de TMP establecida. También se evaluó el efecto de la TMP sobre la permeabilidad de las proteínas midiendo la concentración de proteína soluble en el permeado con respecto a incrementos de 5 psi en la TMP.

Resultados y discusión

Descascarillado

Además de la separación inicial para fraccionar el frijol en cascarilla y cotiledones, el descascarillado es necesario para evitar que los compuestos fenólicos abundantes en la cascarilla interactúen con las proteínas y afecten el rendimiento en la extracción de estas. Para favorecer el descascarillado, el frijol debe estar completamente hidratado, esto permite el total desprendimiento de la cascarilla. Sin embargo, de acuerdo con Ulloa *et al.* (2011), la semilla de frijol posee una baja permeabilidad al agua en condiciones de baja temperatura. En este sentido, se evaluó el efecto del escaldado previo al remojo sobre el proceso de hidratación de los granos de frijol. Como se observa en la Figura 2a, el proceso de escaldado tiene un efecto pequeño pero significativo sobre la resistencia del frijol a la hidratación. Los resultados muestran que el porcentaje de captación de agua a los 120, 180 y 240 min fue mayor para los granos de frijol que recibieron el tratamiento térmico previo al remojo. A los 240 min los granos sin tratamiento mostraron un porcentaje de captación de agua de 98.7% en relación con su peso, mientras que el frijol escaldado captó un porcentaje de 109%. En el trabajo de Ulloa *et al.* (2011) se reportó que la tasa máxima de captación de agua fue de entre un 105 a 120%, siendo distinto para diferentes variedades de frijol. Estas observaciones podrían indicar que después de 4 horas de remojo el escaldado ayudó a lograr la hidratación total del frijol.



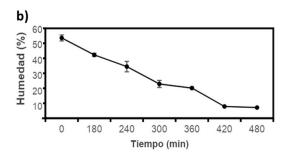


Figura 2. a) Efecto del escaldado sobre la hidratación del frijol. b) Cinética de secado del frijol hidratado (escaldado). *Letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos (n=3).



Posterior a la hidratación, la cinética de secado (Figura 2b) mostró que entre 7 y 8 horas de horneado a 50°C son suficientes para reducir la humedad del frijol a un porcentaje menor al previo a la hidratación. Una vez seco, la cascarilla del frijol se remueve fácilmente por presión mecánica. Con base en las características adquiridas por el frijol después del tratamiento (hidratación-secado), se utilizó una máquina descascarilladora rotatoria con labios de neopreno (Figura 3a) que separó los cotiledones de la cascarilla (Figura 3c). La descascarilladora se acopló a un túnel con aire comprimido (Figura 3b) que retiró la cascarilla para obtener cotiledones limpios (Figura 3d) y cascarilla (Figura 4e).

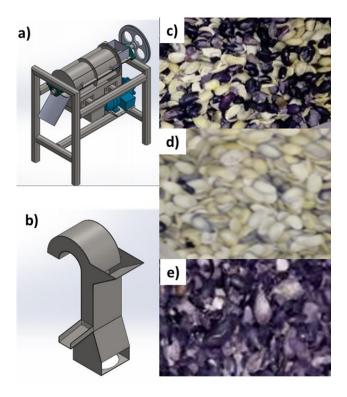


Figura 3. a) Modelo de descascarilladora rotativa con labios de neopreno, b) prototipo de túnel de separación de cascarilla, c) frijol descascarillado, d) cotiledones de frijol limpios, e) cascarilla de frijol.

Extracción de proteína

En la Figura 4 se muestran dos curvas típicas de solubilidad de proteína, donde la solubilidad máxima y mínima para el frijol crudo fue de 250 mg/1 g de cotiledón (pH 12) y 19 mg/1 g de cotiledón (pH 4), mientras que para el frijol cocido fue de 132 mg/1 g de cotiledón (pH 12) y 40 mg/1 g de cotiledón (pH 4). Se observa que tanto para frijol crudo como cocido los medios alcalinos por encima de pH 8 favorecen la extracción de proteína, teniendo su pico máximo de solubilidad en pH 12. Por otro lado, en pH 4 (un medio ligeramente ácido) las proteínas de frijol presentan su mínima solubilidad. La solubilización en medios acuosos alcalinos es efectiva para obtener altos rendimientos de extracción de proteína de leguminosas como el frijol (Aguiló-Aguayo *et al.*, 2021). Si bien en pH 12 se reportó una mayor concentración de proteína soluble, la diferencia con el valor reportado a pH 10 no fue estadísticamente significativa. Por esta razón se decidió trabajar a un pH 10 en todas las extracciones subsecuentes ya que según lo reportado por Hadnađev *et al.* (2018), la solubilización de proteínas por encima de este valor tiende a afectar su calidad y funcionalidad.



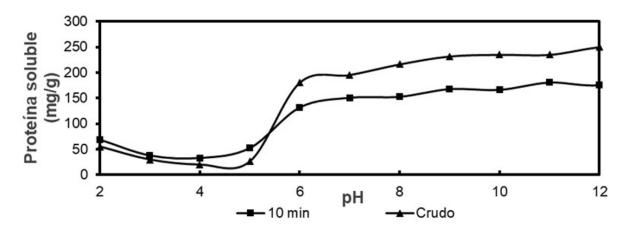


Figura 4. Curva de solubilidad de proteína de frijol crudo y cocido.

Además del pH, fue necesario explorar otras condiciones del proceso que permitieran maximizar los rendimientos de extracción de proteína. En la Figura 5a se muestra el rendimiento de proteína expresado en porcentaje de eficiencia de extracción (con respecto a la proteína total en el frijol crudo) al realizar hasta tres extracciones secuenciales y considerando dos diferentes relaciones entre soluto y solvente (1:10 y 1:20). Después de las tres extracciones secuenciales, los tratamientos con una relación soluto/solvente 1:20 presentan la más alta eficiencia de extracción, siendo 80.2% y 90.5% para frijol crudo y cocido, respectivamente. Bajo estas condiciones, la primera extracción es eficiente en 62.2% para frijol crudo y 56.7% para frijol cocido. Con la segunda y tercera extracción, en conjunto, suman entre un 18% extra de rendimiento para el frijol crudo y un 33% extra para el frijol cocido. Esta información puede ser relevante para la toma de decisiones a nivel industrial, ya que se deberá valorar los beneficios de reprocesar la materia prima a través de extracciones secuenciales y obtener los máximos rendimientos contra los beneficios logísticos de solo procesar la materia prima una sola vez.

El efecto de la temperatura y la relación soluto/solvente sobre la extracción de proteínas se muestra en las Figuras 5b y 5c para frijol crudo y cocido, respectivamente. En frijol crudo la temperatura no tuvo un efecto (p>0.05) sobre la eficiencia de extracción en ninguna de las dos relaciones soluto/solvente. Sin embargo, para el frijol cocido la temperatura de solubilización influyó significativamente (p<0.05) en la eficiencia de extracción. El aumento en la eficiencia de recuperación fue de 52.7% para la extracción a 25°C y una relación soluto/ solvente 1:20, mientras que fue de hasta un 67% para el tratamiento a 90°C. Sin embargo, no existieron diferencias entre el tratamiento a 90°C y a 60°C, por lo que, en términos de eficiencia energética, el tratamiento a 60°C sería el mejor para extraer la proteína de una matriz de frijol cocido.



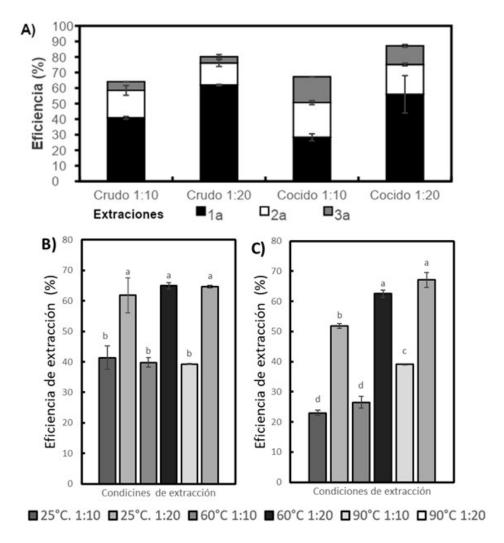


Figura 5. Efecto de diferentes condiciones de proceso sobre la extracción alcalina de proteína en frijol. a) Solubilizaciones alcalinas consecutivas sobre la eficiencia de extracción en frijol crudo y cocido. b) Temperatura y la relación soluto/solvente sobre la eficiencia de extracción en frijol crudo. c) Temperatura y la relación soluto/solvente sobre la eficiencia de extracción en frijol cocido. *Los resultados se expresan como el promedio y la desviación estándar. El porcentaje de eficiencia se calculó con base en la proteína soluble cuantificada en frijol crudo. Letras diferentes indican diferencias entre las muestras de cada tratamiento (p<0.05, Tukey).

Concentración de proteína

La exploración de tecnologías emergentes, como la ultrafiltración para la concentración de proteínas, ha demostrado la obtención de altos rendimientos, permitiendo una mayor funcionalidad tecnológica cuando se compara con otras metodologías como la precipitación isoeléctrica o la precipitación micelar. Además, permite la eliminación de algunos compuestos no deseables en el producto final como sales y oligosacáridos (Alfaro-Díaz *et al.*, 2021). Otra ventaja de la ultrafiltración en los procesos de concentración de proteínas es la capacidad de escalamiento para el manejo de grandes volúmenes. No obstante, la eficiencia de este proceso requiere de una correcta exploración de las condiciones de operación, principalmente presión, flujo y concentración de sólidos.



Una correcta configuración de las condiciones disminuye la acumulación de sólidos en la membrana, retardando el ensuciamiento y en consecuencia se alarga el tiempo de operación previo a la limpieza (Tejeda *et al.*, 1995). En la Figura 6a se muestra una curva típica de la medición del flujo con respecto al aumento de la TMP en el proceso de ultrafiltración para frijol crudo y cocido cuando se utilizó una membrana con un corte de 5 kDa. Aunque es tenue, se aprecia una flexión negativa en la linealidad de la curva entre la TMP 25–30, pasando de un aumento de 8 mL/min de flujo por cada 5 psi de aumento a 6 mL/min para frijol crudo y de 9 a 6 mL minuto para frijol cocido. Esta disminución en el flujo se determinó como la TMPc para concentrar proteína de frijol crudo o cocida solubilizada en pH 10. Trabajar por debajo de la TMPc disminuye la probabilidad de la formación de la película de proteínas en la superficie de la membrana retrasando el fenómeno de ensuciamiento (Tejeda *et al.*, 1995).

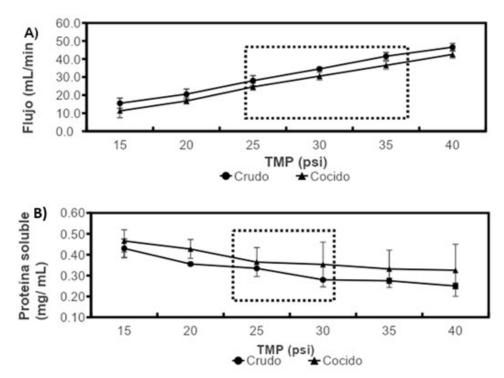


Figura 6. Determinación de condiciones para el proceso concentración de proteínas de frijol negro San Luis por ultrafiltración con membrana polimérica de 5 kDa MWCO. a) Perfil de ensuciamiento de membrana con respecto a la TMP. b) Concentración de proteína soluble en permeado con respecto a la TMP. Los resultados se expresan como la media y la desviación estándar. *TMP= Presión Transmembrana. psi= Libras de presión por pulgada cuadrada.

Otro aspecto importante dentro de los parámetros de operación del equipo de ultrafiltración durante la concentración de proteína de frijol es evaluar la pérdida de proteína en permeado con respecto a la TMP durante el proceso de ultrafiltración para frijol crudo y cocido (Figura 6 b). Se observó que a medida que la TMP aumenta, el permeado de proteína disminuye, permitiendo la pérdida de 0.42 a 0.47 mg/mL cuando la TMP fue configurada a 15 psi y pasando a solo 0.25 a 0.33 mg/mL cuando la TMP se configuró por encima de 30 psi. Sin embargo, las pruebas estadísticas no indican diferencias para las condiciones de TMP, tanto en frijol crudo y cocido (p>0.05), por lo que se puede trabajar por debajo del punto de TMP crítico, favoreciendo el proceso para no ensuciar prematuramente la membrana sin afectar el permeado de proteína de manera significativa.

De acuerdo con los resultados expuestos, se decidió que la TMP que mejor favorece la concentración de proteína de frijol fue de 25 psi. Esta condición de operación fue replicada en procesos de ultrafiltración donde se trabajaron lotes de 1 kg de frijol (10 litros de extracto) y los resultados fueron publicados



en el trabajo de Alfaro-Díaz *et al.* (2021), cuyas conclusiones sobre el proceso es que bajo estos parámetros una membrana de corte de 5 kDa permite una pérdida máxima de proteína de 2.54% para frijol crudo y hasta 4.14% para cocido. No obstante, existen pérdidas de proteína durante el proceso de ultrafiltración, estas son menores comparadas con el trabajo de Vijayasanthi *et al.* (2019), quienes reportaron una permeabilidad de hasta 10% de proteína cuando se concentró proteína de coco con una membrana de 5kDa.

Con las condiciones exploradas en este trabajo, Alfaro-Diaz *et al.* (2021) reportó que para 1 kg de harina de frijol descascarillados fue posible extraer entre 49 y 55% de la proteína contenida en el frijol. Obteniendo un rendimiento de entre 185 y 195 g de polvo con una concentración de proteína de entre 55.9 y 60%.

Conclusiones

Se exploraron las condiciones que permitieron un proceso eficiente para la obtención de un concentrado de proteína de frijol a través de procesos escalables en cada una de sus etapas. El tratamiento de escaldado aplicado a los granos de frijol previo al remojo permitió una mejor hidratación para el frijol y benefició el descascarillado. Por otro lado, la relación soluto/solvente fue el parámetro que más impacto tuvo sobre la eficiencia de extracción de proteína de frijol, siendo favorecida por una mayor proporción de solvente. Por último, se determinó el punto crítico de presión operativa de la membrana durante el proceso de ultrafiltración, siendo este el principal factor para ejecutar este proceso de manera escalable y concentrar mayores volúmenes de proteína en solución. Este estudio ofrece un punto de partida para la industrialización del frijol como fuente de proteínas alternativas e ingredientes funcionales para satisfacer la creciente demanda de la industria de alimentos en México.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que la investigación se realizó en ausencia de cualquier relación comercial o financiera que pudiera interpretarse como un potencial conflicto de interés.

Financiamiento

Esta investigación fue financiada con los fondos del CONACYT, México (Convocatoria para resolver Problemas Nacionales, Otorgamiento número 2016-2081).

Referencias

- Aguiló-Aguayo, I., Álvarez, C., Saperas, M., Rivera, A., Abadias, M., & Lafarga, T. (2021). Proteins isolated from Ganxet common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) landrace: techno-functional and antioxidant properties. *International Journal of Food Science & Technology*, 56(11), 5452-5460.
- Alfaro-Diaz, A., Urías-Silvas, J. E., Loarca-Piña, G., Gaytan-Martínez, M., Prado-Ramirez, R., & Mojica, L. (2021). Techno-functional properties of thermally treated black bean protein concentrate generated through ultrafiltration process. *Lwt*, 136, 110296.
- Boye, J., Zare, F., & Pletch, A. (2010). Pulse proteins: Processing, characterization, functional properties and applications in food and feed. *Food research international*, 43(2), 414-431.



- Echaverria M. (2021). Unilever y Danone van por el millonario mercado de las proteínas veganas. *Revista Expansión en línea*. Consultado el 14 de marzo de 2023. https://expansion.mx/empresas/2021/05/20/unilever-danone-mercado-proteinas-veganas-mexico-valor
- Hadnađev, M., Dapčević-Hadnađev, T., Lazaridou, A., Moschakis, T., Michaelidou, A. M., Popović, S., & Biliaderis, C. G. (2018). Hempseed meal protein isolates prepared by different isolation techniques. Part I. physicochemical properties. *Food Hydrocolloids*, 79, 526-533.
- Henchion, M., Hayes, M., Mullen, A. M., Fenelon, M., & Tiwari, B. (2017). Future protein supply and demand: strategies and factors influencing a sustainable equilibrium. *Foods*, 6(7), 53.
- Los, F. G. B., Zielinski, A. A. F., Wojeicchowski, J. P., Nogueira, A., & Demiate, I. M. (2018). Beans (Phaseolus vulgaris L.): whole seeds with complex chemical composition. *Current Opinion in Food Science*, 19, 63-71.
- Sánchez Suárez, Y., Pérez Castañeira, J. A., Sangroni Laguardia, N., Cruz Blanco, C., & Medina Nogueira, Y. E. (2021). Retos actuales de la logística y la cadena de suministro. *Ingeniería Industrial*, 42(1), 169-184.
- Tejeda, O. A., Montesinos, O.R.M. & Guzmán, O.R. (1995). Ultrafiltración. En *Bioseparaciones* (pp. 461-511). Pearson.
- Ulloa, J. A., Rosas Ulloa, P., Ramírez Ramírez, J. C., & Ulloa Rangel, B. E. (2011). El frijol (Phaseolus vulgaris): su importancia nutricional y como fuente de fitoquímicos. *Revista Fuente*, *3* (8), 5-9.
- Vijayasanthi, J., Adsare, S. R., Lamdande, A. G., Naik, A., Raghavarao, K. S. M. S., & Prabhakar, G. (2020). Recovery of proteins from coconut milk whey employing ultrafiltration and spray drying. *Journal of food science and technology*, 57, 22-31.