

## **Desarrollo de una pasta con alto contenido de proteína utilizando proteína concentrada de alfalfa (*Medicago sativa*).**

**Baigts Allende D<sup>\*a</sup>, Delgado García, D<sup>a</sup>, Chávez Nolasco D<sup>a</sup>, Pérez Montero, L<sup>a</sup>, Pérez Ortiz, S.C<sup>a</sup>, Medina Chávez, N<sup>b</sup>.**

<sup>a</sup>Tecnológico de Monterrey Campus Queretaro, Escuela de Ingeniería y Ciencias. Epigmenio González 500, Fracc. San Pablo, C.P. 76130. Querétaro México.

<sup>b</sup>Universidad Latino Mérida. Carretera a Cholul S/N, C.P 97305. Mérida, Yucatán

\* dbaigts@itesm.mx.

### **RESUMEN:**

La popularidad de la pasta debido a su fácil y versátil preparación, sabor y bajo costo, es uno de los productos alimentarios más consumidos en el mundo. En el presente trabajo se utilizó la pasta como un producto vehículo de compuestos nutricionales para mejorar calidad. Se elaboró una pasta con alto contenido proteína vegetal utilizando como base un cultivo de alta extensión territorial en México, la “alfalfa verde”. La proteína de la biomasa de alfalfa fue fraccionada (soluble e insoluble), la fracción soluble proteica de alfalfa (jugo verde) fue utilizada para sustituir parcialmente el agua de la formulación de la pasta a diferentes niveles. La presencia de la proteína en los concentrados proteicos se confirmó por técnicas de electroforesis e infrarrojo y presentaron un contenido proteico aproximado de un 61 %. El contenido proteico en la pasta aumentó hasta un 5 % en comparación con las muestras control (pasta convencional)..

### **ABSTRACT:**

The popularity of pasta due to its easy and versatile preparation, good taste and low cost is one of the most consumed food products in the world. In this study, the pasta was used as a vehicle of nutritional compounds to increase the nutrimental quality. High content vegetal protein pasta was elaborated using a highly produced crop in Mexico “alfalfa”. The biomass protein from alfalfa was fractioned (soluble e insoluble), the soluble fraction of alfalfa protein (green juice) was employed by replacing water from the formulation of pasta at different levels. The presence of protein in the protein concentrates was confirmed by electrophoresis and infrared techniques showing a protein content around 61 %. The protein content on the pasta increased 5 % in comparison to control samples (conventional pasta)..

### **Palabras clave:**

Pasta, proteína vegetal, alfalfa (*Medicago sativa*)

Pasta, vegetal protein, alfalfa (*Medicago sativa*)

**Área:** Desarrollo de nuevos productos

## **INTRODUCCIÓN**

El aumento de la demanda de proteínas durante los últimos años, ha intensificado la búsqueda de fuentes alternativas de proteínas animales. Debido a que la confianza de los consumidores hacia las proteínas animales ha ido cambiando debido a problemas de seguridad y salud (por ejemplo el uso de hormonas). Se ha demostrado que las proteínas animales son más costosas y tienen un mayor impacto energético-ambiental que las vegetales. Un estudio realizado por Pimentel (2012) reportó que producir proteína animal requiere ocho veces más energía combustible fósil que la proteína vegetal, mientras que en su rendimiento es sólo 1.4 veces más nutritiva para el consumo humano. Las proteínas vegetales representan fuentes más económicas y versátiles, altamente disponibles en la naturaleza, son más biocompatibles, tienen un bajo costo y son más sustentables (Teuling, 2011).

Dentro las fuentes menos convencionales proteicas no-derivadas de animales se encuentran las proteínas provenientes de hojas verdes. La introducción de proteínas de plantas en la dieta humana, ha sido estudiada mediante el empleo de extractos foliares proteicos tanto como suplementos para la malnutrición en niños de países en desarrollo (Waterlow, 1962; Dewa, et al., 2007; Beulajosephin, et al., 2013), como para su uso como ingrediente

funcional en el desarrollo de productos alimentarios (Knuckles, B.E et al., 1982; Sheen, J and Vera, 1985; Van de Velde, F et al., 2011).

La proteína soluble presente es la enzima ribulosa-1,5-bifosfato carboxilasa/oxigenasa (RuBisCO), y su importancia para el consumo humano radica en las cantidades de aminoácidos esenciales presentes comparables con las recomendaciones de consumo de la FAO/WHO para la nutrición humana (Tabla 1.)

Tabla 1. Comparación de la composición de aminoácidos de RuBisCo y otras fuentes de proteínas en comparación con el patrón de referencia para la nutrición humana FAO/WHO.

Aminoácido	FAO/WHO	Huevo entero	Caseína	Soya	RuBisCo
Lisina	5.5	6.4	8.0	6.9	6.5
Triptófano	1.0	1.2	1.3	1.3	2.7
Treonina	4.0	5.0	4.3	4.3	5.3
½ cisteína y metionina	3.5	5.5	3.5	2.4	3.4
Valina	5.0	7.4	7.4	5.4	6.7
Isoleucina	4.0	6.6	6.6	5.1	4.9
Leucina	7.0	8.8	10.0	7.7	9.4
Tirosina y fenilalanina	6.0	10.1	11.2	8.9	12.8

Fuente: *Barbeau and Kinsella (1988)*

Uno de los productos más consumidos por en el mundo es la pasta, el cual incrementó en el 2014 a 2 millones de toneladas (International Pasta Organisation Survey, 2015). La pasta es un alimento popular por su bajo costo y su fácil y rápida preparación. Está bien documentado que los cereales (principal ingrediente de la pasta) son carentes en algunos aminoácidos esenciales lo que limita su calidad proteica, sin embargo durante las últimas décadas se han desarrollado productos con combinación de harinas con mayor contenido proteico como frijol, camarón, azafrán por mencionar algunos, con la finalidad de mejorar su valor nutricional (Gallegos-Infante, et al., 2010; Ramya et al., 2015, Armellini et al., 2018).

Desai et al., (2017) estudiaron el efecto de reemplazar semolina por polvo de proteína de pescado en pasta, quienes lograron aumentar más del doble de proteína en el producto final en comparación a la muestra control (30.12 %). Asimismo, pasta enriquecida con fibra (salvado de avena) y proteínas de fuentes animal y vegetal (soya y clara de huevo) ha sido estudiada como un snack saludable saciante (Martini et al., 2018).

En el presente estudio, se elaboró pasta sustituyendo el agua de la formulación por concentrados de proteína soluble de alfalfa con la finalidad aumentar la calidad nutricional del producto a un bajo costo. La finalidad de utilizar un cultivo de alta producción en México, fue parte de una estrategia de aprovechamiento mediante el fraccionamiento de las proteínas para que los componentes de la biomasa puedan ser utilizados tanto para consumo animal como humano.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se llevó a cabo un estudio de mercado cualitativo causal y cuantitativo concluyente para evaluar la factibilidad de crear una marca de pasta con alto contenido proteico. Se encuestaron a 65 personas entre 20 y 58 años (35 mujeres y 30 hombres) en la ciudad de Querétaro, en diferentes localidades como universidades y residencias familiares de nivel socioeconómico entre A/B y C+ (AMAI, 2018). Un criterio de inclusión fue el ser consumidores habituales de pasta y que fueran los responsables del abastecimiento de los alimentos en sus hogares (compra de alimentos).

El material de estudio (alfalfa) fue adquirido en un mercado local localizado en la ciudad de Querétaro, México. Los análisis proximales de la materia prima y la pasta desarrollada en cuanto al contenido de humedad (925.09), proteína (954.01), ceniza (923.03) y fibra cruda (962.09) se determinaron según los métodos AOAC (1997). El factor de conversión para proteínas en el producto final desarrollado (pasta) fue 5.70 (AOAC 979.09) utilizado en proteínas provenientes del trigo.

El diagrama general de la preparación de los concentrados proteicos y la elaboración del producto se observa en la Figura 1. Para la obtención de concentrados proteicos se trituró la alfalfa fresca utilizando una licuadora industrial, posteriormente el jugo verde obtenido se separó de la biomasa (pellet) mediante prensado con una manta de cielo. La determinación del contenido de proteína (soluble) en la solución “jugo verde clarificado” (tratado térmicamente a 55 °C por 20 minutos) se realizó mediante el método de Peterson (modificación de Lowry), utilizando un kit Sigma Aldrich adaptado a microplaca. Las muestras proteicas fueron adicionadas con una alícuota de ácido deoxicólico y solución TCA al 72 %, la solución reposó por 10 minutos y se centrifugó. El pellet re-suspendido en el reactivo de Lowry se mezcló con el reactivo de Folin-Ciocalteu y midió a 630 nm utilizando como estándar albúmina sérica bovina (BSA).

La preparación de la masa para la elaboración de la pasta consistió en combinaciones de harina de trigo, agua y concentrado proteico de alfalfa en diferentes concentraciones (Tabla 2). Los ingredientes y amasaron para favorecer la interacción de las proteínas gliadina:glutenina para favorecer la formación del gluten y formar masas homogéneas de textura deseable. Las masas se dejaron reposar por 30 minutos a temperatura de refrigeración (4°C) cubiertas con recubrimiento parafilm.

Tabla 2. Formulaciones desarrolladas para la elaboración de la pasta

Ingrediente	Control	Formulación 1	Formulación 2
Harina de trigo	100 g	100 g	100 g
Agua	60 g	30 g	0 g
Concentrado proteico	0 g	30 g	60 g

La masa de las diferentes formulaciones se utilizó para hacer la pasta con una máquina de pasta. Una vez alcanzado un grosor homogéneo, la masa cortada en forma de “tallarín” se colocó en charolas cubiertas con papel encerado y se hornearon a 74 ° C durante 1 hora y 40 minutos.

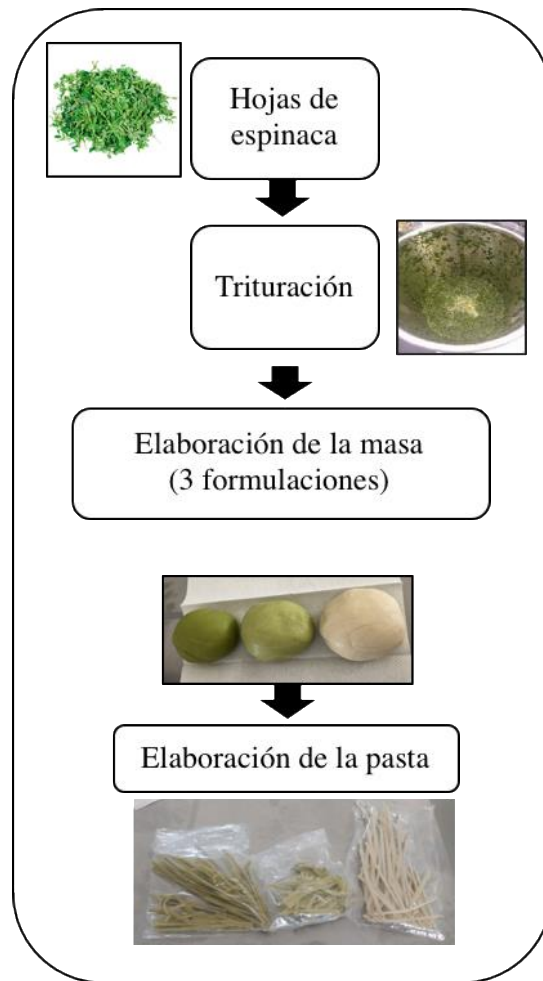


Figura 1. Esquematación de la elaboración de pasta con alto contenido en proteína.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Según los resultados globales de las encuestas, independientemente del sexo y la edad, la principal razón por la que los encuestados consumen pasta fue porque les agrada el sabor. En cuanto a que es lo que les gustaría que tuviera una pasta el mayor número de respuestas hizo referencia al valor nutricional, preferentemente el contenido de proteína. Como segundas opciones seleccionadas estuvieron que consumen pasta porque les gusta la consistencia y porque el precio es muy accesible (Figura 2).

Estos resultados sugieren que la pasta puede ser una fuente de alimento alternativa para aumentar el contenido de proteína y/o valor biológico de la misma, que se complementará con los aminoácidos aportados por el cereal que carece de algunos aminoácidos (limitantes). Además de su alto consumo y fácil preparación, según estadísticas del Euromonitor Internacional (2018) se prevé que la tendencia por los ingredientes a base de plantas y la nutrición portátil continuarán aumentando durante los próximos años.

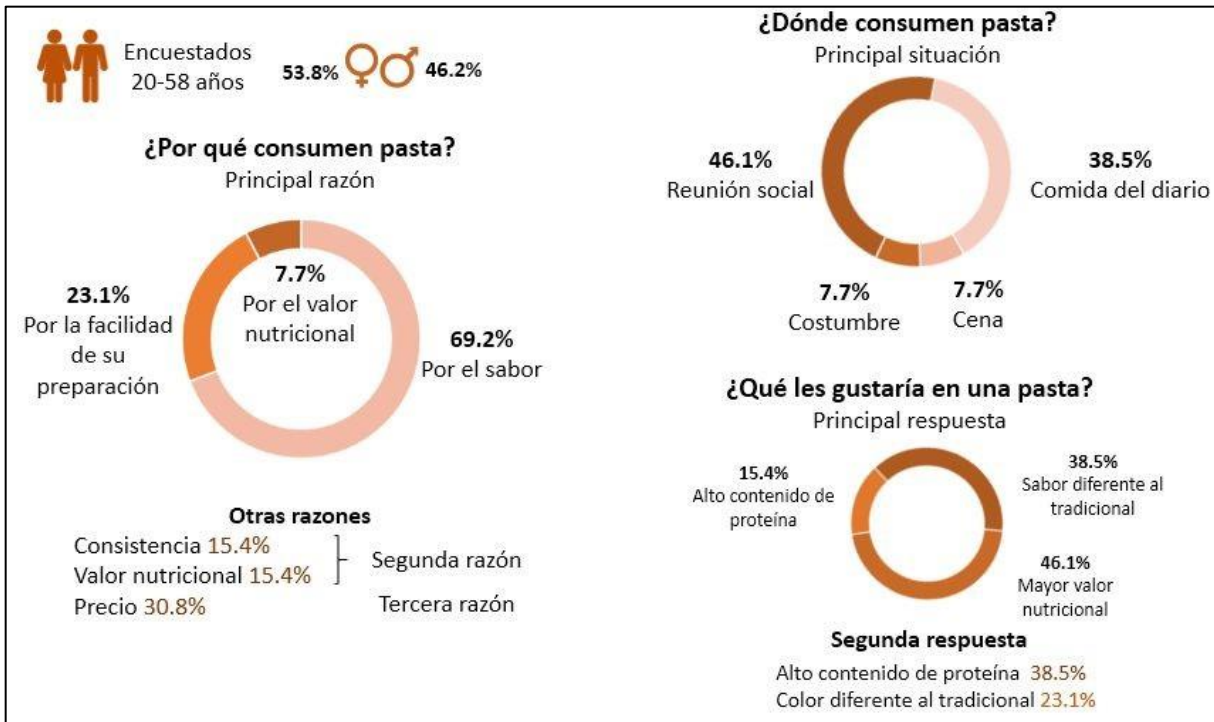


Figura 2. Resultados de encuestas relacionadas al consumo de pasta.

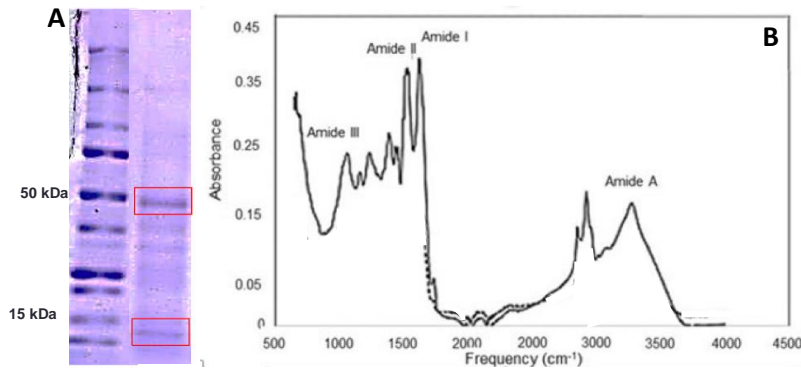
En cuanto a los resultados obtenidos de los análisis proximales de la materia prima (alfalfa), se observó que el segundo componente mayoritario después del agua es la proteína (Tabla 2). El contenido de proteína encontrado en la biomasa de alfalfa fue ligeramente mayor a valores reportados para hojas amaranto (10.7 g/100) y comparables con la proteína reportada para *Moringa oleifera* y *Medicago sativa* (alfalfa) de 22.4 y 26.1 % respectivamente (Andini et al., 2013; Sánchez-Machado et al., 2010).

**Tabla 2.** Caracterización fisicoquímica de alfalfa fresca

Composición química	*g/100g de muestra
Humedad	80.69±0.79
Proteína (Nx6.25)	23.22±0.38
Fibra	19.30±0.11
Ceniza	14.24±0.03

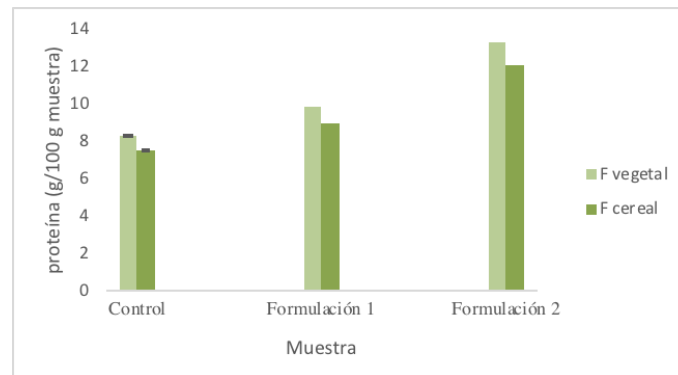
\*Valores promedio y desviación estándar

El rendimiento del jugo verde después del procesamiento de la alfalfa fresca fue de un 34 %, con un contenido de proteína promedio de 61.46 %. La presencia de la proteína soluble correspondiente a la Fracción I en las extracciones acuosas, se confirmó con los resultados obtenidos por gel electroforesis y los espectros infrarrojo (Figura 1). La Figura 1A muestra las bandas encontradas con pesos moleculares aproximados de 50 KDa y 13 KDa respectivamente, las cuales corresponden a las fracciones proteicas L (large) y S (small) constituyentes de la proteína RubisCO. Por otro lado, en la Figura 1B se observa la “huella” de la molécula proteica que representa a la vibración de enlaces de grupos funcionales que forman su estructura, mostrando la presencia de los grupos amida A, I, II y III.



**Figura 1.** Gel electroforesis (A) y espectro infrarrojo de proteína soluble de alfalfa (B).

Una vez caracterizados los concentrados proteicos de alfalfa, se analizaron las muestras (pasta) que fueron elaboradas con diferentes formulaciones. Los tallarines además de diferencias en la intensidad del color verde, mostraron incrementos significativos en el contenido de proteína entre la formulación 2 en comparación a la muestra control (aproximadamente un 5 % de diferencia) para ambos factores de conversión cereales y proteínas vegetales (Figura 2.)



**Figura 2.** Contenido de proteína en pasta de alfalfa a diferentes composiciones utilizar el factor de conversión proteica vegetal (6.25) y para cereal (5.7).

El incremento en proteína en este estudio fue ligeramente mayor a lo reportado por Sęczyk et al., (2016) quienes fortificaron pasta de sémola de trigo con hojas de perejil encontrando diferencias de un 3 % entre la muestra no fortificada y su contenido más alto de la fuente vegetal rica en proteína (4 % polvo de hojas de perejil). Asimismo, pasta enriquecida con un 35 % de proteína de habas aumentó hasta un 4 % comparada a las muestras control (Laleg et al., 2016).

## CONCLUSIÓN

De acuerdo a los resultados obtenidos, se puede concluir que el uso de proteína soluble a partir del cultivo de alfalfa es una alternativa potencial para incrementar el contenido de proteína en productos con bajo contenido proteico y/o bajo valor biológico como es la pasta. La oportunidad de un doble aprovechamiento de recursos naturales normalmente dedicados para el consumo animal, puede ser una estrategia para mejorar el contenido nutricional de productos alimentarios de consumo humano a un bajo costo dejando el subproducto para consumo de ganado (pellet). En el cual proteínas cloroplásticas, fibra y otros compuestos fitoquímicos pueden ser fácilmente digeribles por los animales sin comprometer su alimentación.

## BIBLIOGRAFÍA

- Andini, R., Yoshida, S., & Ohsawa, R. (2013). Variation in protein content and amino acids in the leaves of grain, vegetable and weedy types of amaranths. *Agronomy*, 3(2), 391-403.
- AOAC. Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis. 20th. Washington, DC, USA, 1997.
- Armellini, R., Peinado, I., Pittia, P., Scampicchio, M., Heredia, A., & Andres, A. (2018). Effect of saffron (*Crocus sativus* L.) enrichment on antioxidant and sensorial properties of wheat flour pasta. *Food chemistry*, 254, 55-63.
- Asociación Mexicana de Agencias de Inteligencia de mercado y Opinión. Nivel Socio Económico MAI (2018). Comité de Nivel Socioeconómico AMAI, Noviembre.
- Barbeau, W.E and Kinsella, J.E (1988). Ribulose biophosphate carboxylase/oxygenase (RuBisCO) from green leaves-Potential as a food protein. *Food Reviews International*, 4, 93-127.
- Desai, A., Brennan, M. A., & Brennan, C. S. (2018). The effect of semolina replacement with protein powder from fish (*Pseudophycis bachus*) on the physicochemical characteristics of pasta. *LWT-Food Science and Technology*, 89, 52-57.
- Gallegos-Infante, J. A., Rocha-Guzman, N. E., Gonzalez-Laredo, R. F., Ochoa-Martínez, L. A., Corzo, N., Bello-Perez, L. A., ... & Peralta-Alvarez, L. E. (2010). Quality of spaghetti pasta containing Mexican common bean flour (*Phaseolus vulgaris* L.). *Food Chemistry*, 119(4), 1544-1549.
- Hojilla-Evangelista, M. P., Selling, G. W., Hatfield, R., & Digman, M. (2017). Extraction, composition, and functional properties of dried alfalfa (*Medicago sativa* L.) leaf protein. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(3), 882-888.
- Kinsella, J. E. (1970). Evaluation of plant leaf protein as a source of food protein. *Chemistry and Industry*.
- Knuckles B.E. and Kohler, G.O. (1982). Functional Properties of Edible Protein Concentrates from Alfalfa. *J. Agric. Food Chem*, 20: 748-752.
- Laleg, K., Barron, C., Santé-Lhoutellier, V., Walrand, S., & Micard, V. (2016). Protein enriched pasta: structure and digestibility of its protein network. *Food & function*, 7(2), 1196-1207
- Martini, D., Brusamolino, A., Del Bo, C., Laureati, M., Porrini, M., & Riso, P. (2018). Effect of fiber and protein-enriched pasta formulations on satiety-related sensations and afternoon snacking in Italian healthy female subjects. *Physiology & behavior*, 185, 61-69.
- Ramya, N. S., Prabhasankar, P., Gowda, L. R., Modi, V. K., & Bhaskar, N. (2015). Influence of freeze-dried shrimp meat in pasta processing qualities of Indian T. durum wheat. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 24(6), 582-596.
- Sánchez-Machado, D. I., Núñez-Gastélum, J. A., Reyes-Moreno, C., Ramírez-Wong, B., & López-Cervantes, J. (2010). Nutritional quality of edible parts of *Moringa oleifera*. *Food analytical methods*, 3(3), 175-180.
- Sheen, S.J and Sheen, V.L (1985). Functional Properties of Fraction 1 Protein from Tobacco Leaf. *J. Agric. Food Chem*. 33:79-83.
- Van de Velde, F., Alting, A., & Pouvreau, L. (2011). From waste product to food ingredient: the extraction of the abundant plant protein Rubisco. *New Food*, 14(2), 10-13.
- Waterlow, J. C. (1962). The absorption and retention of nitrogen from leaf protein by infants recovering from malnutrition. *British Journal of Nutrition*, 16(1), 531-540.
- Dewan, P., Kaur, I., Chattopadhyaya, D., Faridi, M. M. A., & Agarwal, K. N. (2007). A pilot study on the effects of curd (dahi) & leaf protein concentrate in children with protein energy malnutrition (PEM). *Indian Journal of Medical Research*, 126(3), 199.
- Beulajosepin, E. D., & Mungikar, A. M. (2013). Biochemical analysis of leaf protein concentrate prepared from selected plant species of Tamil Nadu. *Int J Pharm Res Dev*, 5(3), 7-14.