

DETERMINACIÓN DE PROTEÍNAS EN HUEVO Y HARINA DE TRIGO

Jhoan Martínez, Juan Barbosa [†]

Departamento de Química. [†] Departamento de Física. Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia.

ABSTRACT: The extraction and quantification of food components, such as proteins, is of vital importance for the nutritional aspects of medicine and, in general, for biochemistry itself. In the present document two samples of common foods, wheat and egg, which have been in the diet of humans for a long time, were studied by means of UV-VIS spectroscopy. For this purpose, we carried out the corresponding sample preparation, solution and dilutions to make a calibration curve later. Wheat flour was one of the first foods discovered by human civilization and has been one of the main sources of polysaccharides, lipids and proteins since then. Furthermore, eggs have been, since ancient times, a very important food for man and its consumption is widespread worldwide currently. Depending on their function, proteins can be classified as structural, metabolic and storage proteins, like gluten, which is found commonly in wheat flour. Although the results showed significant variance, protein content was quantified between 0.706 g and 0.284 g per 100 g of wheat, and 10 mg/mL and 110 mg/mL for egg.

■ INTRODUCCIÓN

La harina de trigo fue uno de los primeros alimentos de la civilización humana y ha sido desde entonces una de las principales fuentes de polisacáridos, lípidos y proteínas. Aproximadamente un 20 % de los constituyentes de la harina son proteínas, la primera descubierta en este alimento fue el gluten por el científico Beccari en 1745 [1]. En 1908 Osborne propuso un método de clasificación de las proteínas basado en su solubilidad y funcionalidad, los 3 principales grupos de proteínas son: albuminas (solubles en agua), globulinas (soluble en soluciones salinas diluidas) y prolaminas (solubles en soluciones de etanol) [2].

Según su función las proteínas se pueden clasificar como estructurales, metabólicas (no-gluten) y de almacenamiento (gluten). Dentro de las proteínas estructurales/metabólicas se encuentran la albúmina, la globulina y la mayoría de las proteínas anfífilas. Las proteínas no prolaminas (albúminas y globulinas) representan el 15 % del total de las proteínas presentes en la harina de trigo, se caracterizan por tener un bajo peso molecular, entre 60,000 y 70,000 Da y ser de un alto valor nutricional debido a que tienen una gran cantidad de aminoácidos como lisina y metionina [3].

Otra matriz que se empleó para realizar la extracción y cuantificación de proteínas fue el huevo. El huevo está compuesto por agua (75 %), proteínas (12 %), lípidos (12 %), carbohidratos y minerales (1 %). La composición proteica de la clara de huevo está conformada así: ovoalbúmina (54 %), ovotransferrina (12 %), ovomucoide (11 %), lisozima (3,5 %) y ovomucina (3,5 %) [4].

El test de Biuret es una prueba química ampliamente empleada para la detección de proteínas ya que en presencia de enlaces peptídicos y iones de Cu (II), se forman complejos coloreados en medio alcalino. Gracias a sus características colorimétricas es posible hacer cuantificación mediante espectrofotometría UV-vis, tal como se realizó en este laboratorio para realizar la cuantificación de albumina y globulina en harina de trigo y determinación de ovoalbúmina en clara de huevo.

■ SECCIÓN EXPERIMENTAL

En un balón aforado de 250 mL fueron disueltos 0.38 g de sulfato de cobre (II) pentahidratado, y 1.5 g de tartrato de sodio y potasio tetrahidratado usando 75 mL de una solución de hidróxido de sodio 10 % preparada previamente. Posteriormente fue adicionado 0.25 g de yoduro de potasio y finalmente, la solución aforada. En un balón aparte fueron disueltos 1 g de cloruro de sodio en 100 mL de agua.

1.1 Preparación de la muestra

Cerca de 2 g de harina fueron disueltas en 10 mL de cloruro de sodio al 1 %. La muestra disuelta fue centrifugada por 10 minuto a 2800 rpm. El sobrenadante fue aforado en 25 mL de la solución de NaCl. En el caso de la clara de huevo, se realizó una primera dilución 1:10 usando cloruro de sodio al 10 % en un balón de 25 mL. Posteriormente se realizaron dos diluciones de 1 en 5, y 1 en 10, con NaCl en balones de 25 mL.

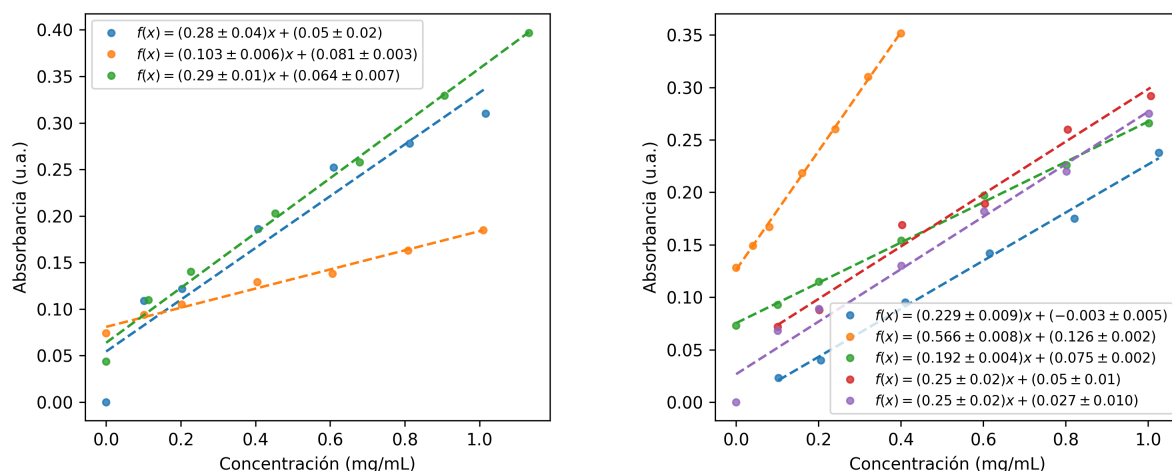


Figura 1. Curvas de calibración para la harina (izquierda) y huevo (derecha).

1.2 Preparación de las soluciones stock

Para el estudio de la proteína en la harina, se preparó una solución stock con concentraciones de 2.5 mg/mL de albúmina sérica y 2.5 mg/mL de globulina. Para la solución stock asociada con la albúmina de huevo, se pesaron 50 mg de ovoalbúmina, los cuales fueron aforados en 10 mL de agua.

1.3 Curvas de calibración y medidas

Los patrones de las curvas de calibración fueron preparados realizando diluciones de 0.0, 0.2, 0.4, 0.8, 1.2, 1.6 y 2.0 mL de cada solución stock en 8 mL del reactivo de Biuret previamente preparado. De forma análoga, se tomaron 2.0 mL de las soluciones de harina y huevo, las cuales se aforaron en balones de 10 mL usando el reactivo de Biuret. Todas las soluciones se dejaron reposar por cerca de 30 minutos, hasta observar que las muestras mantenían un color constante.

Se construyeron las curvas de calibración a 571 nm usando celdas de plástico y la solución de cloruro de sodio, previamente preparada, como blanco.

■ RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla 1. Cantidad de proteínas en las muestras de harina.

Muestra	Concentración en solución (mg/mL)	Cantidad en 100 g de harina (g)
Muestra 1	0.364	0.706
Muestra 2	0.227	0.284
Muestra 3	0.565	0.790
Muestra 4	0.273	0.324

Como se describió en el procedimiento experimental se realizó una curva de calibración utilizando una solución stock de 5.08 mg/mL (2.57 mg/mL de albúmina y 2.51 mg/mL de globulina), haciendo una interpolación con la curva de calibración que se observa en la [Figura 1](#) se obtuvo los resultados

que se muestran en la [Tabla 1](#), los datos obtenidos presentan un promedio de 0,526 g de proteínas por cada 100 g de harina con un desviación estándar de 0,259. Según lo reportado se debería esperar un total de 1,8 g de albúmina y globulina [5], sin embargo los resultados difieren ya que la extracción que se realizó no fue exhaustiva, asimismo los resultados presentan una alta desviación estándar ya que no se empleó la misma marca de harina entre los grupos.

En el caso de la albúmina de huevo, se realizaron dos diluciones a partir de una primera solución stock de 1:10 clara de huevo : NaCl (ac) 1 %. La primera de estas corresponde con una disolución 1:10, y la segunda 1:5, las concentraciones calculadas a partir de las absorbancias reportadas por los distintos grupos de laboratorio, y sus curvas de calibración se muestran en la [Tabla 2](#). Con el objetivo de determinar si los datos son suficientemente coherentes para la realización de un análisis estadístico entre grupos, para determinar el intervalo de confianza, se realiza la razón entre la concentración obtenida para las disoluciones antes mencionadas, para la cual se debería obtener un factor de 2. Sin embargo, como se observa en la [Tabla 2](#), no se evidencia ninguna relación constante para todos los 5 grupos, de hecho, los factores se pueden agrupar en 3 subgrupos: 1.15, ≈ 1.75 y ≈ 2.5 . La presencia de 3 subgrupos en una muestra de 5, ocasiona que exista al menos 1 grupo con un único dato, haciendo poco confiable un estudio estadístico, dada el tamaño de la muestra.

Tabla 2. Concentraciones obtenidas para las dos diluciones de la solución stock medidas del huevo.

Grupo	1:10 (mg/mL)	1:5 (mg/mL)	Razón
1	1.7205	1.9869	1.15
2	0.0809	0.1979	2.45
3	0.2222	0.5711	2.57
4	0.7040	1.2596	1.79
5	0.3649	0.6327	1.73

Para reportar el valor esperado de la proteína del huevo con algún intervalo de confianza, es necesario conocer a profundidad la distribución de los datos. En la [Figura 2](#) se muestra cómo se distribuyen las concentraciones inferidas para la ovoalbúmina, mostrando que existe información insuficiente para determinar la distribución real de la muestra, por otro lado el corrimiento horizontal para datos de un mismo color (grupo), resalta el argumento anterior de una falta de coherencia en la información reportada. Esto último es de particular importancia dado que se puede argumentar que dos huevos extraídos de ambientes completamente distintos han de tener una concentración de proteína diferente, si bien los autores consideran este argumento como válido, para un mismo grupo éste carece de aplicación, por lo cual, la dispersión en la concentración obtenida debería ser considerablemente menor.

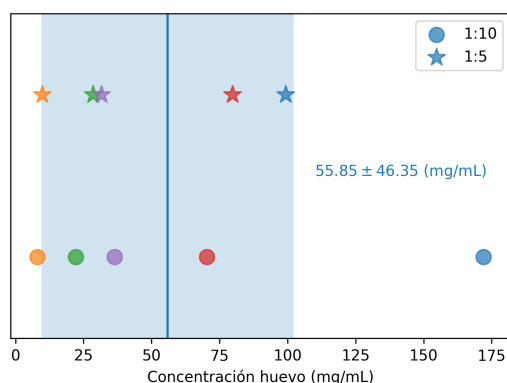


Figura 2. Distribución de la concentración proteínas en la clara de huevo a partir de los datos. Usando círculos se muestran las concentraciones inferidas a partir de las diluciones 1:10, cada color se encuentra asociado a las pendientes de la [Figura 1](#). La línea azul muestra el promedio de los datos, y el área coloreada la región entre $\mu \pm \sigma$.

A pesar de las incongruencias antes mencionadas, se reporta la concentración de ovoalbúmina en la clara de huevo en $(6 \pm 5) \times 10^1$ mg/mL. Dos posibles explicaciones a los resultados son propuestas, por un lado, la preparación de la muestra del huevo es considerablemente más compleja que para la harina, esta complejidad puede explicar la dispersión de los resultados entre grupos. En el caso de los valores obtenidos para un mismo grupo, existe la posibilidad que la reacción de las proteínas con el reactivo de Biuret no haya llegado a su fin, y lo que se observa sea un efecto cinético, en la que unas muestras hayan progresado más en la reacción que otras.

CONCLUSIONES

Se realizó la extracción de proteínas como albúmina, globulina y ovoalbúmina de matrices de harina de trigo y clara de huevo. Empleando estándares de estas proteínas se realizó una curva de calibración y haciendo uso de esta y mediante interpolación lineal, se determinó la cantidad de proteínas presentes en las matrices. Se puede observar que mediante el empleo del reactivo de Biuret se puede llevar a cabo cuantificaciones de forma sencilla, dando lugar a cantidades de proteína en 100 g de harina entre 0.706 g y 0.284 g, para el caso de la ovoalbúmina, se cuantificó la cantidad proteica entre 10 mg/mL y 110 mg/mL.

REFERENCIAS

- [1] Kenneth Carpenter. *Protein and energy: a study of changing ideas in nutrition*. Cambridge University Press, 1994.
- [2] Peter R Shewry and Nigel G Halford. Cereal seed storage proteins: structures, properties and role in grain utilization. *Journal of experimental botany*, 53(370):947–958, 2002.
- [3] William Edwards. *The Science of Bakery Products*. Royal Society of Chemistry, 2007.
- [4] EDNS Abeyrathne, HY Lee, and DU Ahn. Egg white proteins and their potential use in food processing or as nutraceutical and pharmaceutical agents—a review. *Poultry science*, 92(12):3292–3299, 2013.
- [5] Peter I Payne and Kathryn G Corfield. Subunit composition of wheat glutenin proteins, isolated by gel filtration in a dissociating medium. *Planta*, 145(1):83–88, 1979.