



IV CONGRESO IBEROAMERICANO DE INGENIERÍA DE LOS ALIMENTOS

A PIPELINE FOR FUNCTIONAL AND BIOCHEMICAL CHARACTERIZATION OF FRUIT PROTEOLYTIC ENZYME EXTRACTS

Benito-Vázquez I. (1,2), Hontoria-Caballo G. (2), Muñoz-Labrador A. (1), Díez-Municio M. (2) y Moreno F. J. (1)

(1) Institute of Food Science Research, CIAL (CSIC-UAM), C/ Nicolas Cabrera, 9, 28049 Madrid, Spain.

(2) Pharmactive Biotech Products, S.L.U. Faraday 7, 28049 Madrid, Spain.

Organiza:





INTRODUCCIÓN / PRODUCTOS PROTEOLÍTICOS COMERCIALES DE ORIGEN VEGETAL

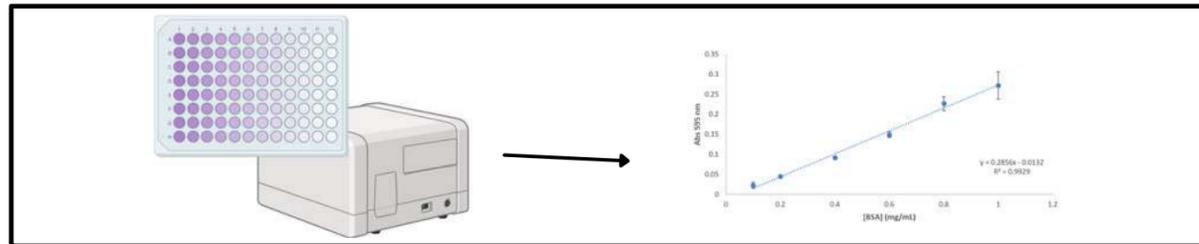
- Estos productos proteolíticos están dirigidos al mantenimiento de la calidad muscular en deportistas y gente en riesgo de sufrir los síntomas de la sarcopenia.
- Generalmente son de origen microbiano, pero existen proteasas de origen vegetal como la bromelaína (**piña**), ficina (**higo**), papaína (**papaya**) y actinidina (**kiwi**) que están ganando relevancia comercial.
- **No existe una homogeneidad** en los análisis realizados para su venta, sobre todo en la medida de actividad, ni protocolos descritos para determinar el origen y detección de fraude **al contrario que en productos analizados por HPLC.**



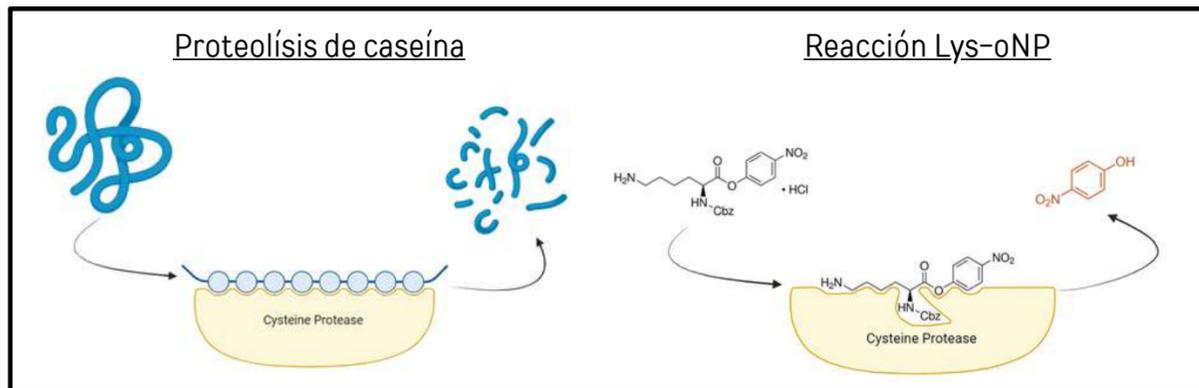


MATERIALES Y MÉTODOS / DIAGRAMA DE FLUJO PARA EL ANÁLISIS DE PRODUCTOS PROTEOLITICOS

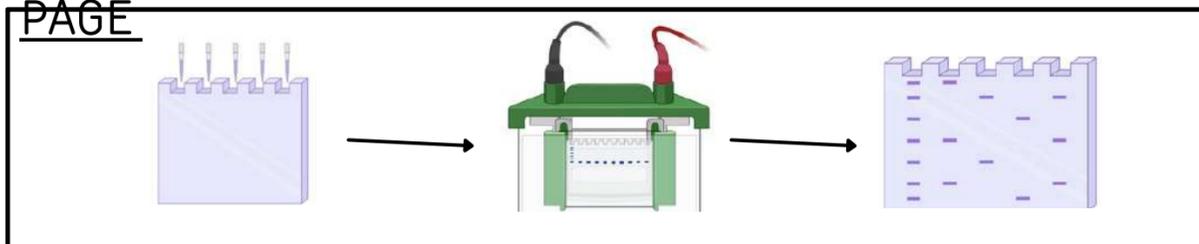
1. Cuantificación de proteína soluble total por Bradford



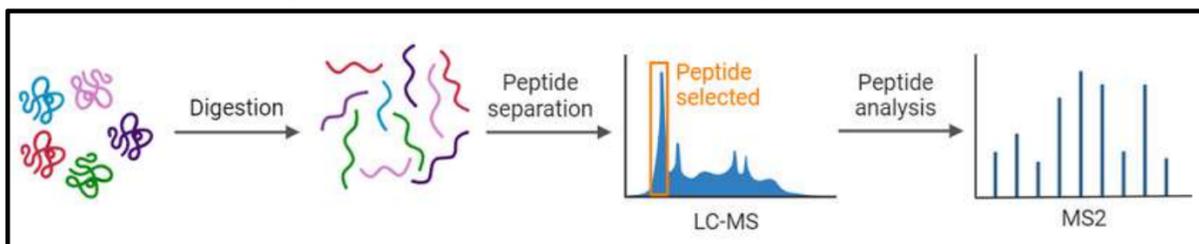
2. Ensayos para medir la actividad proteolítica con caseína o Lys-oNP como sustrato



3. Pureza, integridad, origen y análisis de fraude por SDS-PAGE



4. Pureza, origen y análisis de fraude por MS

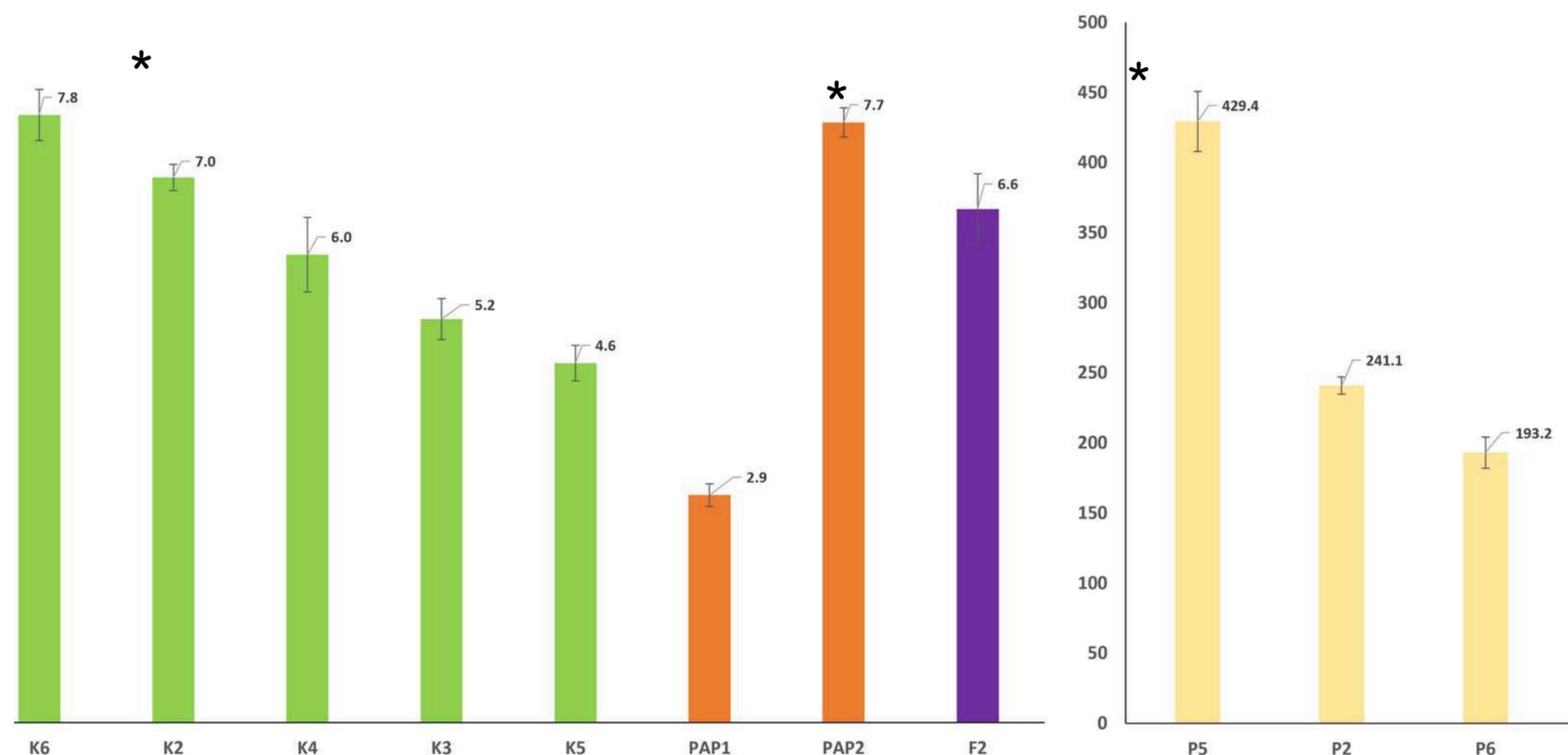


- Propuesta de un flujo de trabajo para aplicar en control de calidad.
- Proposición de condiciones y tipo de ensayo que mejor valore la actividad proteolítica a corto y largo plazo.
- Aplicación de técnicas para la determinación del origen, integridad, pureza y fraude.
- Ofrecer la caracterización común más variada y completa de productos comerciales proteolíticos de origen vegetal.



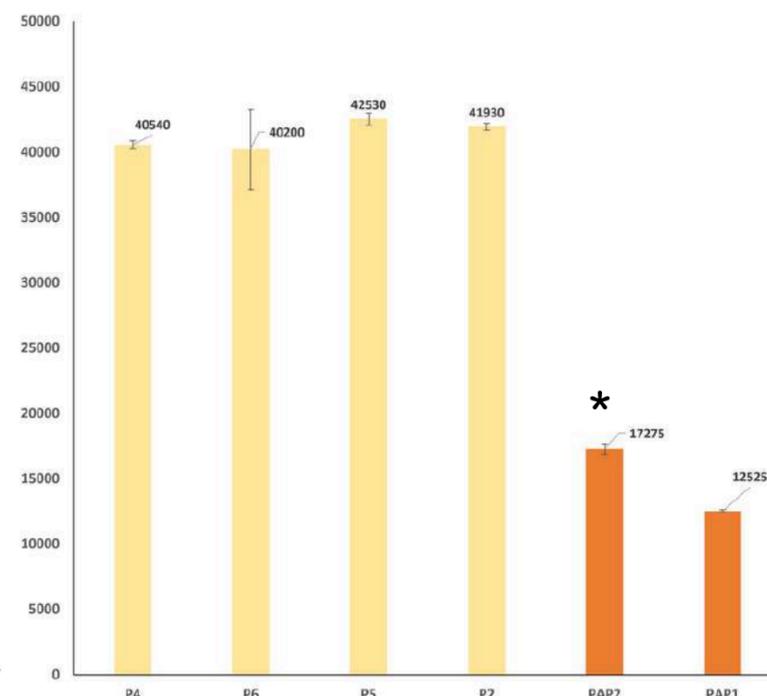
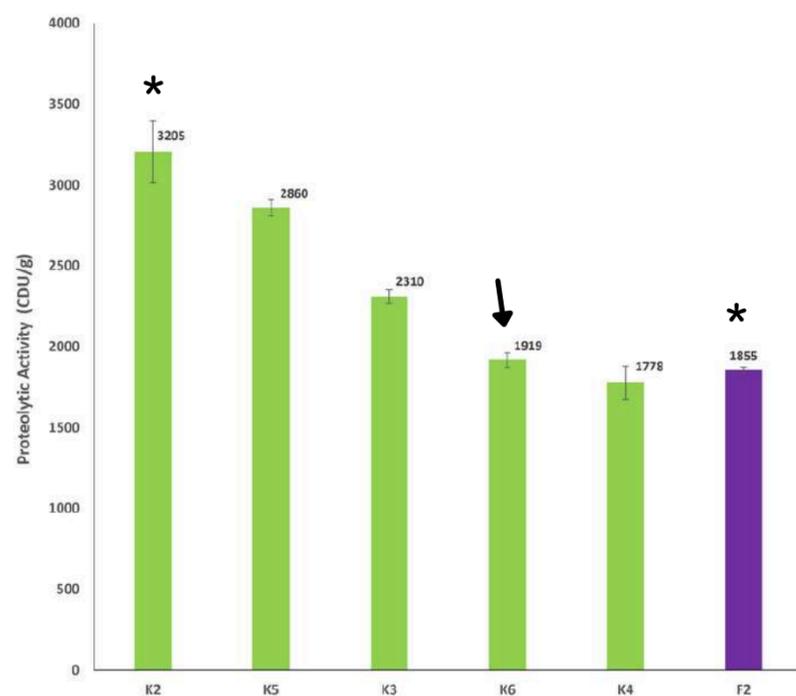
RESULTADOS / PROTEÍNA SOLUBLE TOTAL Y ACTIVIDAD PROTEOLÍTICA

- Los productos de piña son los más ricos en proteína por gramo.
- Los productos de kiwi, papaya e higo, son los más parecidos entre sí.
- Máximo/Producto: **K6, PAP2, P5, F2 (*)**



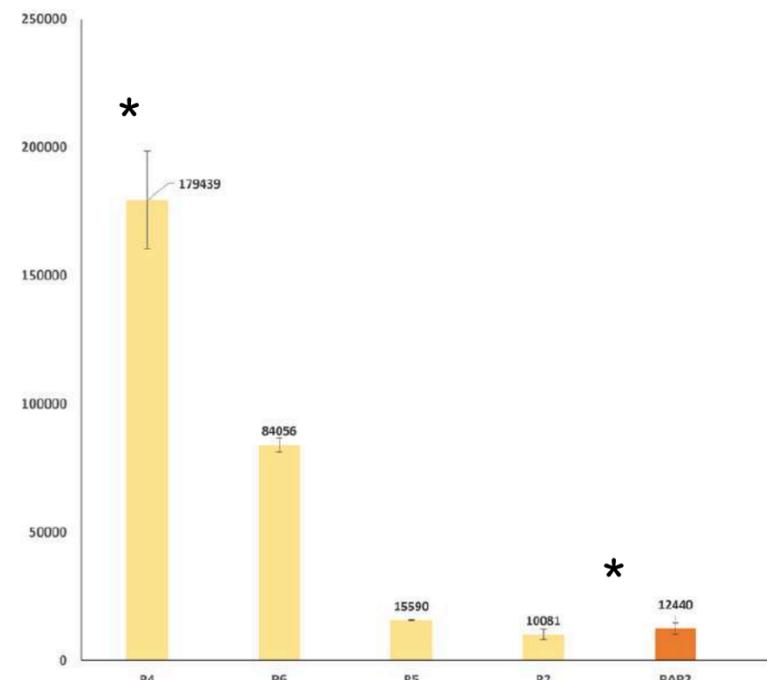
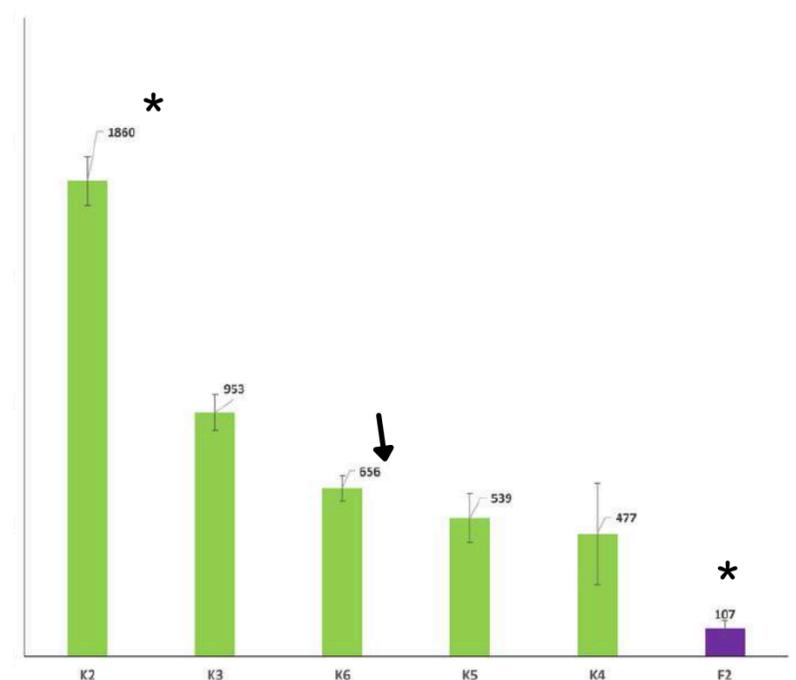


RESULTADOS / PROTEÍNA SOLUBLE TOTAL Y ACTIVIDAD PROTEOLÍTICA



Proteólisis caseína

- Piña (Bromelaína) con mayor actividad.
- Máx/Prod: K2, PAP2, P2-6, F2 (*).
- K6 queda penúltimo (↓).



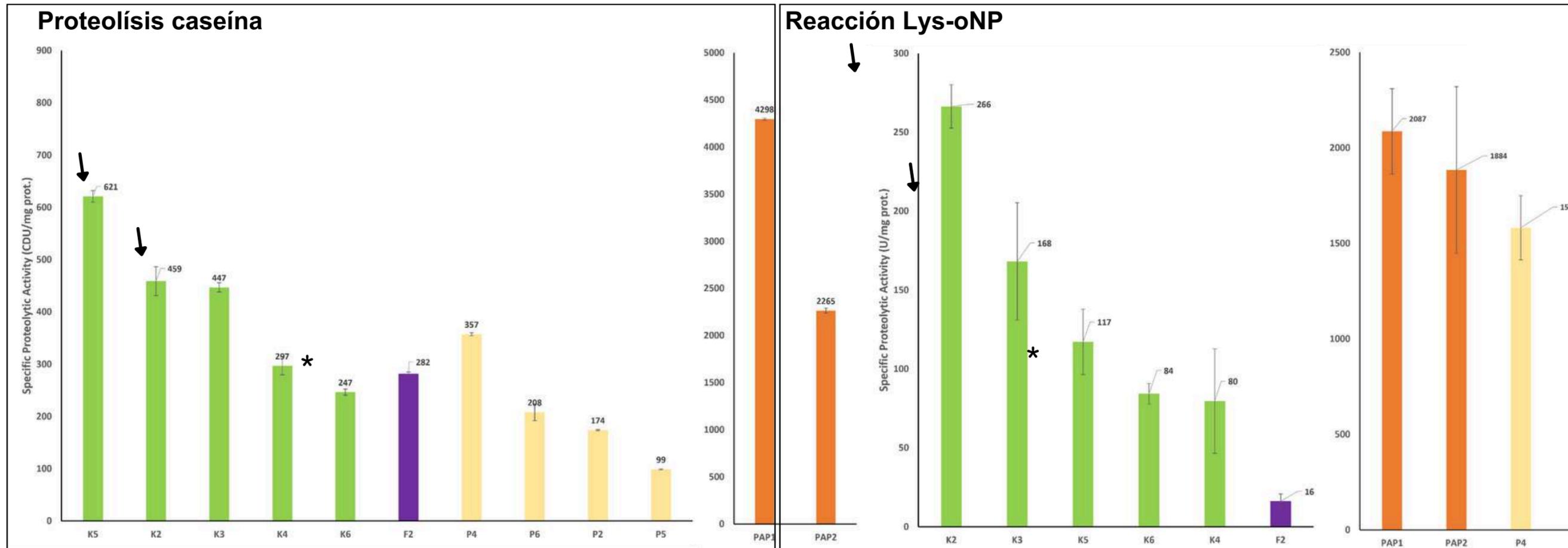
Reacción Lys-oNP

- Piña (Bromelaína) con mayor actividad.
- Diferencias más acusadas intraproducto en kiwi y piña.
- Máx/Prod: K2, PAP2, P4, F2 (*).
- K6 queda tercero (↓).

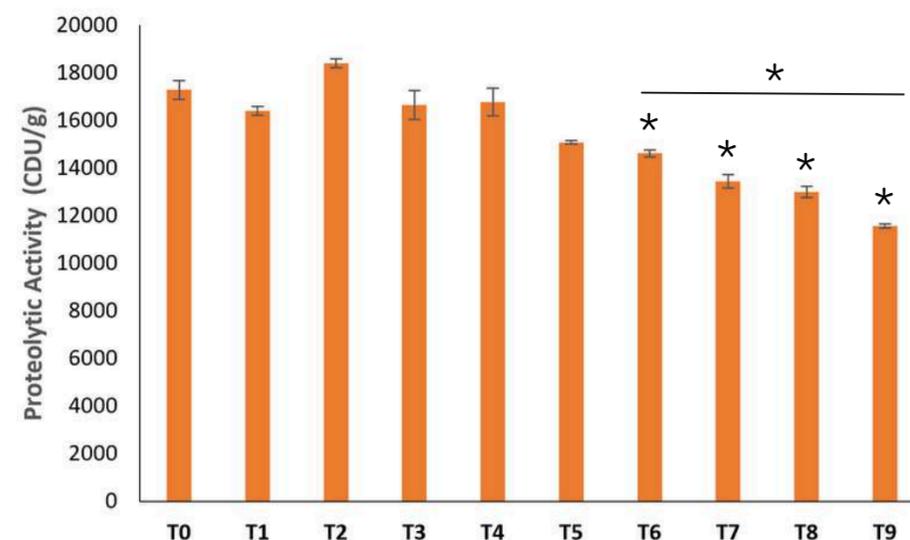
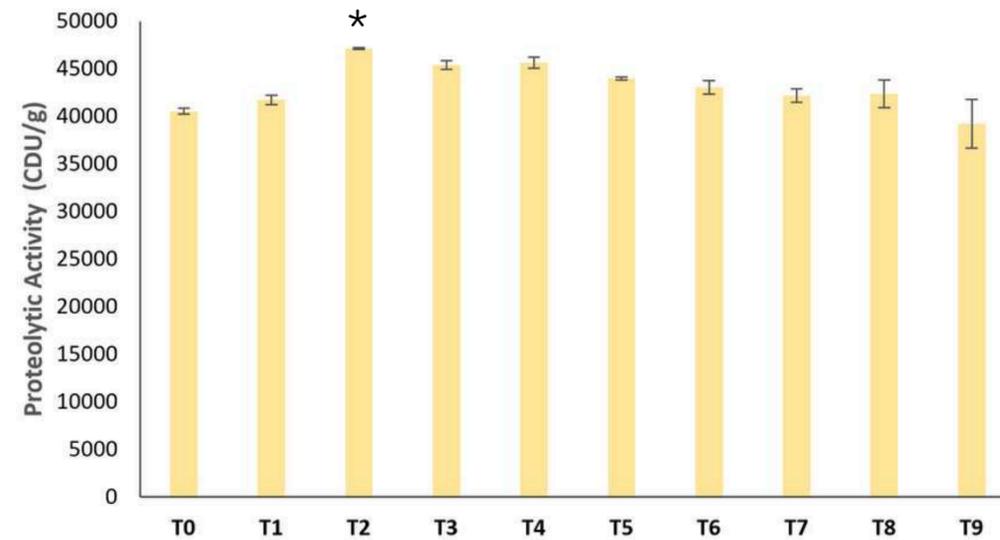
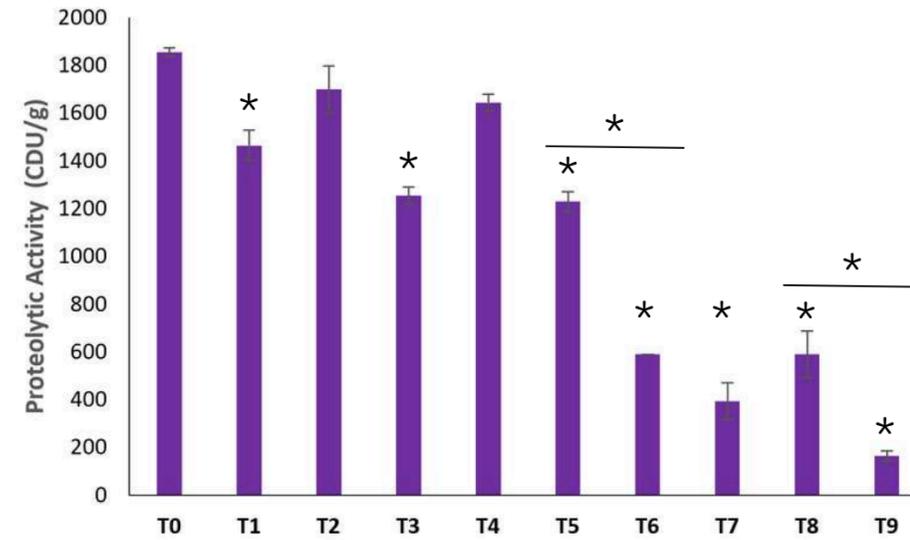
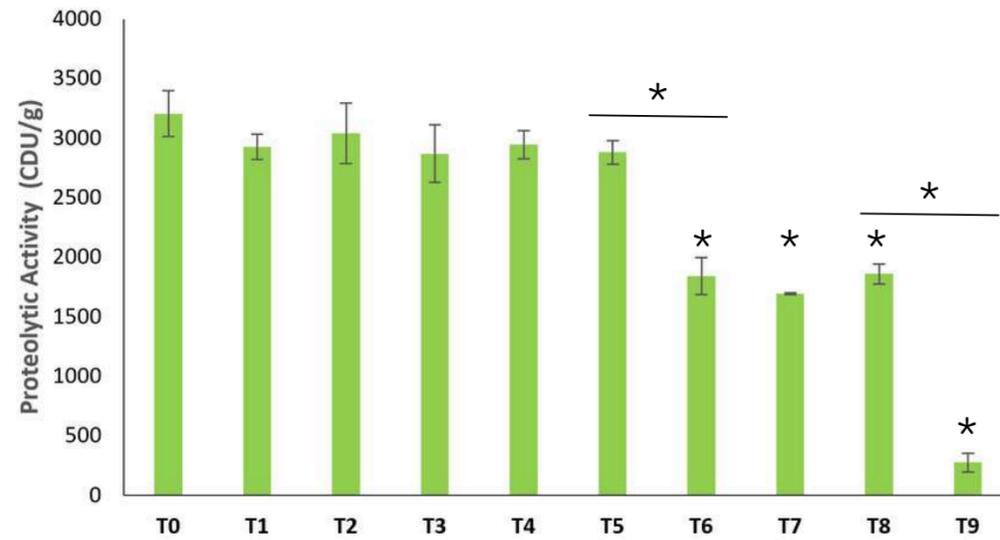
RESULTADOS / ACTIVIDAD ESPECÍFICA COMO INDICADOR DE INTEGRIDAD Y/O PUREZA



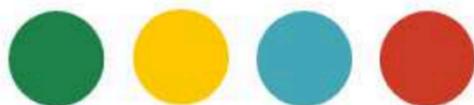
- K6 queda como un producto de baja integridad, mucha enzima inactiva o degradada (*).
- K2 y K6 se establecen como los productos más íntegros dentro de kiwi y más que los de piña que tiene gran cantidad de enzima inactiva (↓).
- Los productos de papaya destacan por ser los más íntegros y probablemente por ello, los más estables (naranja).



RESULTADOS / ESTABILIDAD 25 °C y 60% HR DURANTE 6 MESES



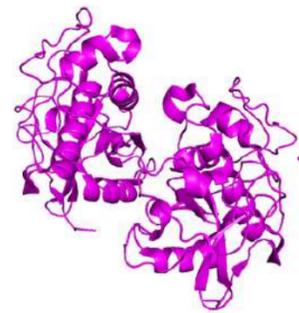
- El ensayo de Lys-oNP supuso demasiada variabilidad entre tiempos.
- Los productos de kiwi e higo son los que más actividad perdieron, mientras que los de papaya y piña se mantienen mucho mejor.
- 2 meses es el tiempo en el que papaya, higo y kiwi empiezan a descender significativamente.





RESULTADOS / SDS-PAGE COMO INDICADOR DE ORIGEN, PUREZA Y POTENCIAL INDICADOR DE FRAUDE, PERFILES DE FRUTAS

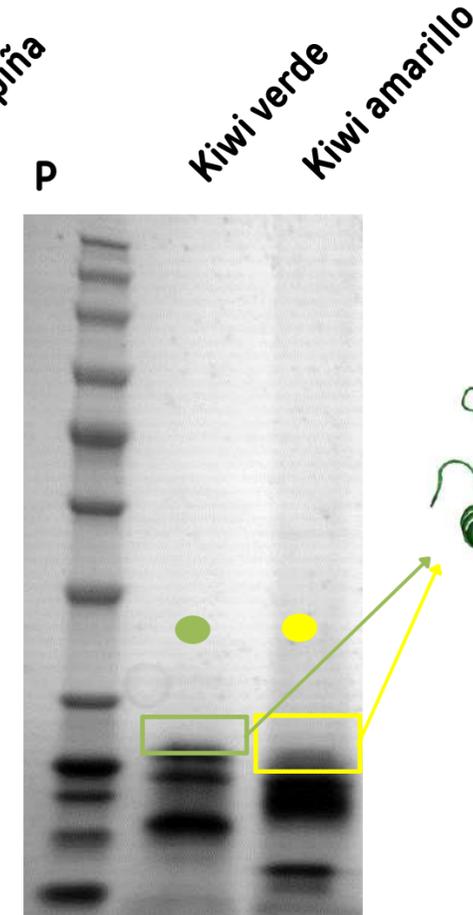
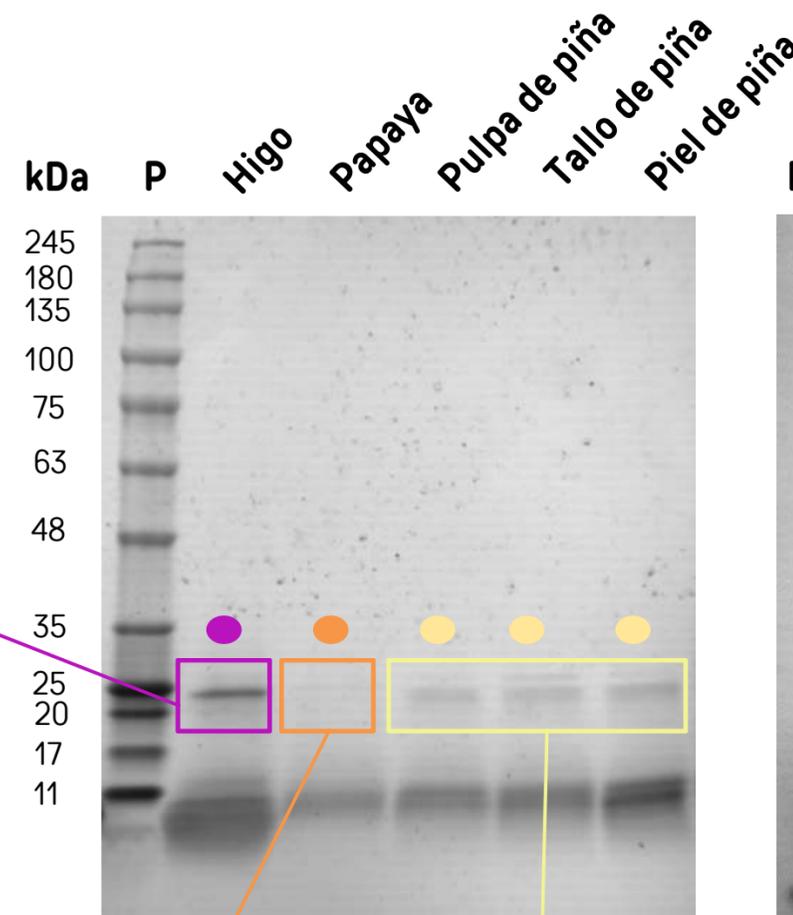
~ 23 kDa
Ficina



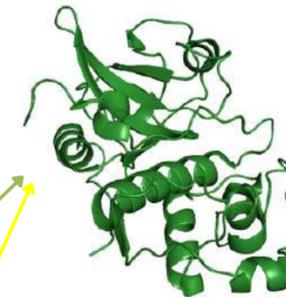
~ 23 kDa Papaína



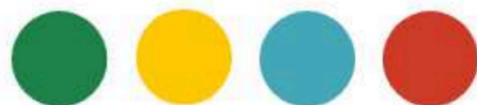
~ 26 kDa y ~23 kDa
Bromelaína



~ 26.5 kDa
Actinidina en kiwi verde

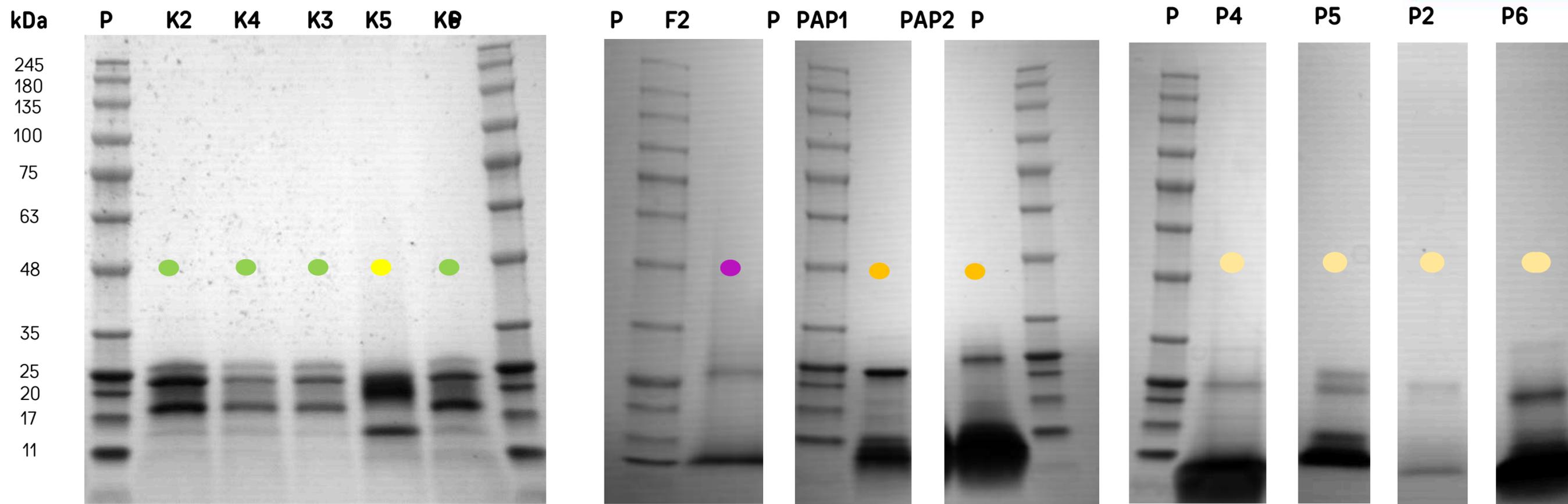


~ 22.8 kDa
Isoforma
Actinidina kiwi amarillo

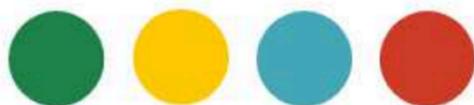




RESULTADOS / SDS-PAGE COMO INDICADOR DE ORIGEN, PUREZA Y POTENCIAL INDICADOR DE FRAUDE, PERFILES DE PRODUCTOS

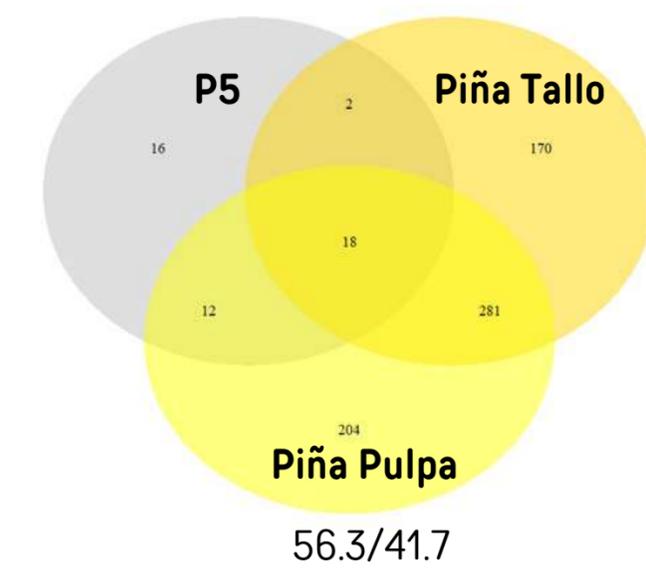
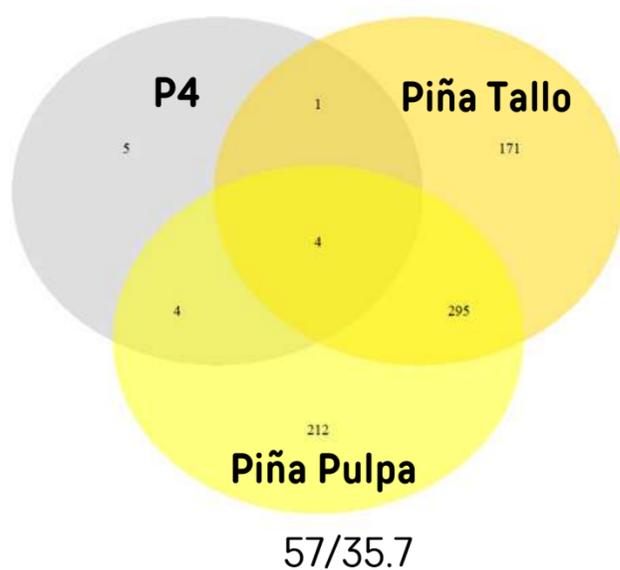
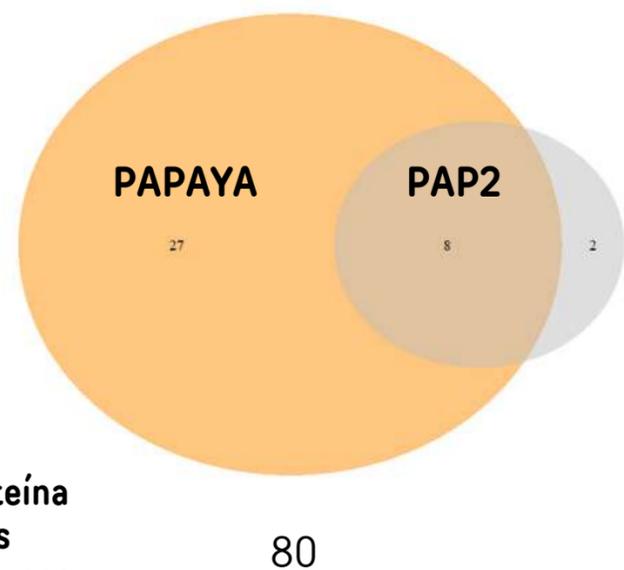
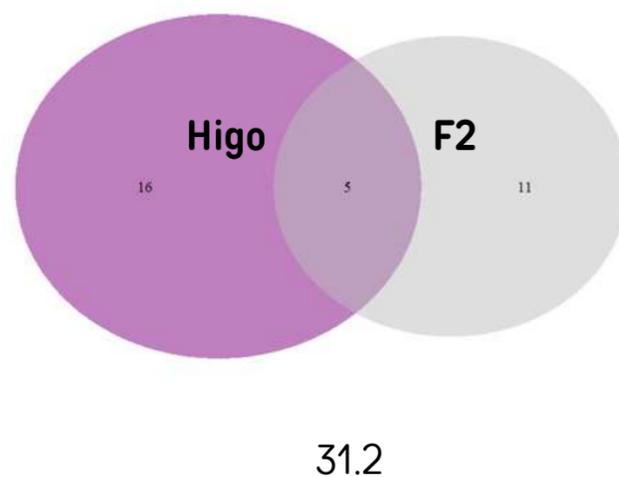
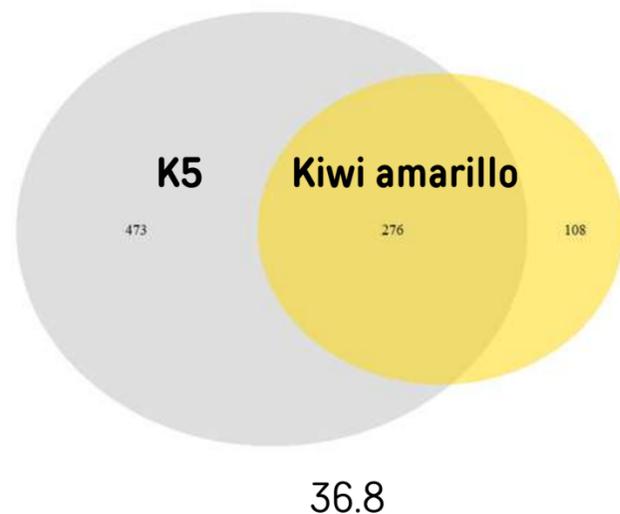
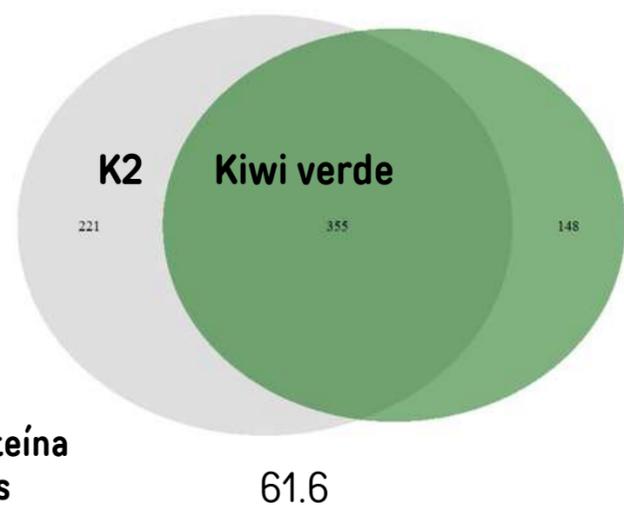


- Todos los productos tienen un patrón similar a su fruta de origen.
- El kiwi parece tener menos pasos de purificación que el resto.
- Mucha degradación en productos de papaya y piña.
- P5 y P6 tienen un patrón similar.
- P2 y P4 tienen un patrón similar.





RESULTADOS / ESPECTROMETRÍA DE MASAS COMO INDICADOR DE ORIGEN, PUREZA Y POTENCIAL INDICADOR DE FRAUDUE



- La papaya, el kiwi verde y la piña son los productos con mayor porcentaje de proteína común con sus frutas de referencia.

- No se detectaron proteínas exógenas en ningún caso.

- Se detectaron un gran número de proteínas en los productos de kiwi.

- En los de papaya y piña de detectaron muy pocas.



CONCLUSIONES

- En cuanto al control de calidad, se propone determinar la cantidad de **proteína soluble** y la **actividad proteolítica con caseína** por asemejarse más a la función final del producto y permitir una medida a largo plazo con fiabilidad. Así mismo, permite determinar el estado de integridad/pureza del mismo mediante la actividad específica.
- Se propone la **SDS-PAGE** como indicador del **origen del producto, integridad y posibles fraudes** de manera sencilla en casos de duda.
- Son **productos por lo general son muy estables en ambientes secos**, pero soportan mal la humedad.
- Existen productos cuyo origen ya determina un bajo grado de purificación.
- El **fraude no parece habitual**.
- Los **procesos de producción son simples** y con pocos pasos, lo cual da productos poco puros.
- La **integridad de estos se ve alterada por su propia autólisis**.



IV CONGRESO IBEROAMERICANO DE INGENIERÍA DE LOS ALIMENTOS

¡MUCHAS GRACIAS POR SU TIEMPO!

Datos de contacto:

- Email: ivan.benito@pharmactive.eu
- Teléfono: [+34 648 80 7777](tel:+34648807777)

Organiza:

