

EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE PROTEÍNAS DE LA SEMILLA FRESCA Y DESHIDRATADA DE CAPOMO (*Brosimum alicastrum*)

Alejandra María Araujo-Heráldez^a, José Isaías Cruz-Solórzano^b, Judith Esmeralda Urias-Silvas^{b*}

^a Carrera de Ingeniería Bioquímica, Instituto Tecnológico de Culiacán, Juan de Dios SN, Guadalupe, 80220 Culiacán Rosales, Sinaloa, MÉXICO. ^b Tecnología Alimentaria, Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C., Normalistas 800, Colinas de la Normal, Guadalajara, Jalisco, C.P. 44270. MÉXICO. *jurias@ciatej.mx

Resumen

La semilla de *Brosimum alicastrum*, mejor conocida como capomo, se encuentra distribuida en 10 estados del territorio mexicano y es una fuente de nutrientes poco explorada y sin embargo, existen comunidades del estado de Jalisco, cuya actividad económica depende de dicha semilla debido a que la comercializan ya sea como harina, pan o como bebida tipo café, no obstante de que los productos mencionados los realizan por tradición ya que aún no hay estudios que plasmen la riqueza de compuestos y propiedades que puede llegar a presentar.

Por lo anterior y dada la escasez de estudios en cuanto al contenido proteico de la semilla, nos propusimos analizar sus proteínas y por consiguiente, generar datos que puedan tener aplicabilidad tecnológica y científica. De acuerdo al fraccionamiento proteico basado en la solubilidad, la fracción mayoritaria para la semilla fresca de capomo fueron las albuminas, en cuanto a la semilla deshidratada, fueron las glutelinas. En el caso de los aislados proteicos se encontraron principalmente las proteínas de la fracción glutelinas. Por otro lado, la digestibilidad *in vitro* obtenida para los aislados proteicos de capomo fue de 79.4%, cercana a lo encontrado para la caseína (86%), proteína utilizada como referencia. Finalmente, en cuanto a la característica de color, se obtuvieron aislados con un índice de blancura medio.

Introducción

El capomo se distribuye extensamente desde el norte de México hasta Brasil. Debido a esta gran presencia, dependiendo de la región y país se le conoce por diversos nombres, en México por ejemplo, también se le conoce como ramón, mojote u ojite, entre otros [6]. Su nombre científico es *Brosimum alicastrum* Swartz, pertenece a la familia Moraceae. El capomo es una especie verdaderamente multiusos, del cual todas las partes se pueden aprovechar. Las semillas hervidas o tostadas tienen sabor parecido a las castañas. Tostadas y molidas se usan como sustituto del café, o bien, se prepara pan o tortillas a partir de la harina [1].

El capomo contiene de 11 a 13% de proteína, una cantidad mayor que los cereales tradicionales como el maíz (10%), cebada (9.2%) y arroz (8.5%). En base a su solubilidad las proteínas de reserva se pueden clasificar como albúminas, globulinas, prolaminas y glutelinas. En cuanto a los aislados proteicos, estos son de gran importancia para la industria de los alimentos debido a su alto contenido de proteína, el cual puede alcanzar hasta un 90%, siendo una alternativa para el desarrollo de nuevos productos o bien para la mejora de las características de productos ya existentes. Actualmente las propiedades nutricionales del capomo no han sido estudiadas de manera adecuada y debido a que es una planta abundante y utilizada por comunidades del estado de Jalisco mediante la comercialización de productos elaborados a partir de la semilla, es que se considera de interés su estudio. En base a lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue extraer y

caracterizar las proteínas presentes tanto en semilla fresca como en semilla deshidratada de capomo, así como también, el obtener aislados proteicos por medio de precipitación isoelectrica y caracterizarlos por su digestibilidad *in vitro* y color.

Metodología

A. Material vegetal: Se utilizaron semilla fresca (Figura 1 a; b) y semilla deshidratada (Figura 1 c) de capomo adquiridas en la localidad de Cuzalapa, Jalisco.



Figura 1. Semillas de capomo (*Brosimum alicastrum*). a) fresca; b) fresca; c) deshidratada.

Fuente: <http://spanish.mayanutinstitute.org>

B. Métodos:

1. Molienda: La molienda facilita la extracción de proteínas, antioxidantes, fibra y grasa, ya que se consigue la ruptura de la pared celular de la semilla. Para la molienda de la semilla de capomo se utilizó una licuadora marca Kitchen Aid y a partir de la harina obtenida se realizaron los análisis posteriores.

2. Desengrasado: Se utilizó harina de semilla fresca y harina de semilla deshidratada de capomo. Para el desengrasado se siguió el método de Barba de la Rosa y col (1992) [2], brevemente, se utilizó una proporción harina:solvente 1:10 con agitación continua por 4 horas a 4°C. Una vez finalizado el desengrasado se procedió a filtrar la muestra y se dejó secar a temperatura ambiente por 12 horas con la finalidad de que se evaporaran los restos de solvente. Una vez obtenida la harina desengrasada de la semilla de capomo se almacenó a 4°C hasta su uso.

3. Fraccionamiento de proteínas: El fraccionamiento y extracción de proteínas se llevó a cabo por medio del método de Osborne (1924) [8] con algunas modificaciones.

4. Cuantificación de proteína: El contenido de proteína se determinó utilizando el método Bradford (1976) [4].

5. SDS-PAGE: El perfil proteico se analizó por medio de electroforesis en geles de poliacrilamida al 12% en condiciones desnaturizantes reductoras (con β -Mercaptoetanol) y no reductoras (sin β -Mercaptoetanol) de acuerdo al método Laemmli (1970) [5].

6. Aislados proteicos y digestibilidad *in vitro*: Por otro lado, se obtuvieron aislados proteicos por medio de precipitación isoelectrica de acuerdo a la metodología de Salcedo-Chávez y col. (2002) [9]. Con la finalidad de evaluar la calidad proteica de los aislados se

determinó la digestibilidad *in vitro* de acuerdo al procedimiento de Sandoval-Oliveros y Paredes-López (2013) [10] con algunas modificaciones.

7. Indicé de blancura: El color de los aislados proteicos se determinó mediante el método reportado por Montoya-López y col. (2012) [7].

Resultados

Fraccionamiento:

La fracción proteica mayoritaria en la harina fresca de capomo fueron las albúminas, representando un 59% del total de proteínas solubles, seguida por Glo_{0.1} con 26% (Tabla 1). Para el caso de harina de semilla deshidratada, se observaron resultados distintos, obteniendo 68% de la fracción glutelinas, precedida por las Glo_{0.1} con 13% y albúminas con 11% (Tabla 1).

Tabla 1. Fraccionamiento proteico de harina de semilla fresca y semilla deshidratada de capomo.

Fracción	% proteínas en semilla	
	Fresca	Deshidratada
Albúminas	59.40	11.79
Glo _{0.1}	26.70	13.26
Glo _{0.3}	5.16	5.38
Prolaminas	0.76	1.40
Glutelinas	7.98	68.17

Glo_{0.1}: Globulinas extraídas con 50 mM Tris-HCl, pH 8 + 0.1 M NaCl;

Glo_{0.3}: Globulinas extraídas con 50 mM Tris-HCl, pH 8 + 0.3 M NaCl.

Electroforesis:

En el análisis electroforético de harina fresca de capomo (Figura 2) en condiciones reductoras (+ME) se obtuvieron pesos moleculares en albúminas de 56.02 a 13.89 kDa, siendo las más intensas, las bandas de 22.32 y 13.89 kDa. Para las Glo_{0.1} hubo bandas de entre 70.48 a 13.31 kDa, dentro de las cuales las más intensas fueron de 22.30, 14.05 y 13.31 kDa. En el caso de las Glo_{0.3} se observaron bandas de 68.28 a 13.23 kDa, siendo las más intensas de 14.20 y 13.23 kDa. La fracción de Glu fue la menos prominente en la harina fresca de capomo teniendo una sola banda visible de 14.19 kDa.

En condiciones no reductoras (Figura 2; -ME) para albúminas se encontraron bandas de 57.0 a 13.37 kDa, siendo las predominantes de 21.14 y 13.02 kDa. Las bandas visibles para Glo_{0.1} presentan pesos moleculares de 76 a 12.86 kDa, siendo las más intensas de 76, 13.51 y 12.86 kDa. Para Glo_{0.3} se obtuvo un bandeo de 34.32 a 13.16 kDa, siendo las más destacadas las bandas de 13.86 y 13.16 kDa y en Glu una banda de 13.94 kDa.

Tomando en cuenta la forma en que se ve afectado el perfil de bandeo en condiciones reductoras y no reductoras se pudo observar que la fracción de albúminas no se vio influenciada por dichas condiciones; en cambio, para las Glo_{0.1} se observó que en presencia de β -mercaptoetanol se tiene una banda en 23 kDa, la cual no se aprecia en condiciones reductoras; pero si una banda alrededor de los 16 kDa que no está presente en condiciones reductoras. En las Glo_{0.3} se aprecian bandas entre 75 y 50 kDa sólo para condiciones reductoras. Las Glu aparentemente no presentan diferencias en el perfil de bandeo.

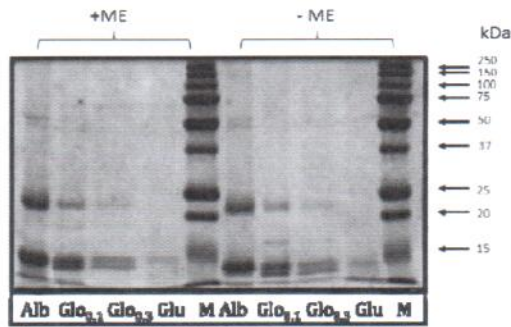


Figura 2: Electroforesis desnaturalizante en geles de poliacrilamida de harina de semilla de capomo fresca. Alb: Albúminas; Glo_{0.1}: Globulinas 0.1; Glo_{0.3}: Globulinas 0.3; Glu: Glutelinas; M: marcador. +ME: Condiciones reductoras y -ME: condiciones no reductoras.

En el gel que resultó de la electroforesis de las fracciones obtenidas de la semilla deshidratada (Figura 3) en condiciones reductoras (+ME) se obtuvieron pesos moleculares para albúminas de 30.72 a 14 kDa, para las Glo_{0.1} se presentaron pesos moleculares de 37.2 a 14.58 kDa. Las Glo_{0.3} tuvieron pesos de 23.45 a 14.43 kDa. Las Glu fueron la fracción mayoritaria y se aprecia un barrido más evidente, presentando bandas anchas de 127.47 a 14.6 kDa. En condiciones no reductoras (-ME) se obtuvo bandeado para albúminas de 36.33 a 14.68 kDa, para Glo_{0.1} de 36.14 a 14.68 kDa. Las Glo_{0.3} presentaron pesos moleculares de 24.39 a 14.46 kDa. En las glutelinas se ve mas intensa la franja del barrido que en presencia de condiciones reductoras y las bandas van de 234.16 a 14.46 kDa. Las bandas mas intensas en presencia y ausencia de β-mercaptoetanol estan en aproximadamente 14 kDa para todas las fracciones variando solo en la intensidad de las mismas.

La principal diferencia entre la presencia o ausencia de β-mercaptoetanol fue, que al no estar presente el barido de bandeado en la fracción mayoritaria, que en este caso fueron glutelinas, se vé un barrido intenso y amplio de 70 a 20 kDa, por consecuencia al estar en condiciones reductoras se ve un barrido mas tenue y se diferencian mejor las bandas presentes entre 50 y 20 kDa, esta diferencia indica la presencia de puentes disulfuro.

Como se observó en la semilla deshidratada de capomo, la fracción más abundante fue la de glutelinas, como sucede en otras semillas. Similares a las glutelinas de arroz y guayaba, las glutelinas representan la mayor parte de las proteínas en la semilla de capomo deshidratada.

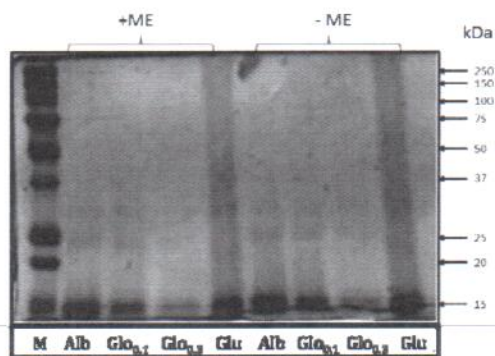


Figura 3: Electroforesis desnaturalizante en geles de poliacrilamida de harina de semilla de capomo deshidratada. Alb: Albúminas; Glo_{0.1}: Globulinas 0.1; Glo_{0.3}: Globulinas 0.3; Glu: Glutelinas; M: marcador. +ME: Condiciones reductoras y -ME: condiciones no reductoras.

En cuanto a los aislados proteicos, se obtuvieron aislados que presentaron proteínas tipo glutelinas, un índice de blancura de 14.75 y una digestibilidad *in vitro* de 79.4%, menor a la que se obtuvo para caseína (85.96%) utilizada como control, sin embargo, valores de menor digestibilidad se han reportaron para proteínas de frijol (77.5%), maíz (66.6%), arroz (59.4%), sorgo (59.1%) y trigo (52.7%) [3;11].

Conclusiones:

- Se logró el fraccionamiento proteico tanto de la semilla en fresco como deshidratada, siendo la fracción albúminas y glutelinas, las mayoritarias, respectivamente.
- Se obtuvieron aislados proteicos a partir de la semilla deshidratada con una digestibilidad *in vitro* aceptable, en comparación a la proteína de referencia.
- Se caracterizó el perfil proteico de los aislados, el cual correspondió principalmente a las proteínas tipo glutelinas.

Referencias

1. Arévalo, A. I., "Respuesta Glicémica de la semilla del Ramón, *Brosimum alicastrum* en Mujeres de 16 a 25 años de edad, residentes de la Ciudad Capital, Guatemala", Universidad Rafael Landívar, Tesis, 2010.
2. Barba de la Rosa AP, Gueguen J, Paredes-López O, Viroben G, "Fractionation procedures, electrophoretic characterization, and amino acid composition of amaranth seed protein", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40, 931-936, 1992.
3. Betancourt, A. D., Gallegos, T. S., Chel, G. L., "Wet-fractionation of *Phaseolus lunatus* seeds: partial characterization of starch and protein", *J. Sci. Food Agric.*, 84, 1193-1201, 2004.
4. Bradford, M., "A rapid sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding", *Analytical Biochemistry*, 72, 248-254, 1976.
5. Laemmli U.K., "Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4", *Nature*, 227, 680-685, 1970.
6. Meiners, M., Sánchez Garduño, S. De Blois, "El ramón: fruto de nuestra cultura y raíz para la conservación", *CONABIO. Biodiversitas*, 87, 7-10, 2009.
7. Montoya-López, J., Giraldo-Giraldo, G. A., Lucas-Aguirre, J. C., "Determinación del índice de blancura en harina de trigo comercial", *Vitae*, 19, 1, 2012.
8. Osborne, T. B., "The vegetable proteins; in monographs in biochemistry", 2nd ed.; New York: Longmans, Green. 1924.
9. Salcedo-Chávez B, Osuna-Castro JA, Guevara-Lara F, Domínguez-Domínguez J, Paredes-López O, "Optimization of the Isoelectric Precipitation Method To Obtain Protein Isolates from Amaranth (*Amaranthus cruentus*) Seeds", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 6515-6520, 2002.
10. Sandoval-Oliveros MR, Paredes-López O, "Isolation and characterization of proteins from Chia seeds (*Salvia hispanica* L.)", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61: 193-201, 2013.
11. Siddhuraju, P., Becker, K., "Effect of various domestic processing methods on anti-nutrients and in vitro protein and starch digestibility of two indigenous varieties of Indian tribal pulse, *Mucuna pruriens* var. utilis", *J. Agric. Food Chem.* 49, 3058-3067, 2001.