

## CARACTERIZACIÓN DE LAS PROTEÍNAS DE RESERVA DE LA SEMILLA DE PAROTA (*Enterolobium cyclocarpum*)

Espitia Orozco F.J.<sup>ab</sup>, Negrete Toledo A.G.<sup>b</sup>, Ordoñez Acevedo L.G.<sup>c</sup>, León Galván M.F.<sup>a\*</sup>

<sup>a</sup>Universidad de Guanajuato, División de Ciencias de la Vida, Departamento de Ingeniería en Alimentos, Ex Hacienda El Copal k.m. 9 carretera Irapuato-Silao; A.P. 311; C.P. 36500; Irapuato, Gto. México.

<sup>b</sup>Instituto Tecnológico Superior de Abasolo, Departamento de Ingeniería Ambiental, Boulevard Cuitzeo de los Naranjos No. 401. Abasolo, Gto.

<sup>c</sup>Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN (Cinvestav). Libramiento Norte Carretera Irapuato-León kilometro 9.6, C.P. 36821. Irapuato, Gto. \*[fabiola@ugto.mx](mailto:fabiola@ugto.mx)

### RESUMEN:

La semilla de parota (*Enterolobium cyclocarpum*) es una planta que pertenece a las leguminosas y la subfamilia de las mimosas, se puede encontrar en los bosques tropicales semicaducifolios de América. En el presente trabajo se realizó la caracterización y cuantificación de las fracciones de proteínas de reserva presentes en la semilla de parota además del análisis de la composición química de la misma. Los análisis de las fracciones y la cuantificación mostraron que la fracción de albúminas es la de mayor abundancia con respecto a las otras fracciones, en el patrón electroforético se observan pesos moleculares que varían desde los 13 kDa hasta los 180 kDa. Por otro lado en la cuantificación de proteínas por el método de Bradford, se destaca la fracción de albuminas como la mayoritaria de las 5 fracciones con 138.35 mg/ g de harina, lo anterior lo perfila como un buen prospecto para su estudio en la búsqueda de péptidos funcionales. El análisis químico proximal mostró que la semilla de parota tiene un elevado valor proteínico, por lo cual se podría considerar una buena fuente alternativa de proteínas.

### ABSTRACT:

Parota seed (*Enterolobium cyclocarpum*) is a plant belonging to the legume and mimosa subfamily and can be found in the semi-deciduous tropical forests of America. At the present work was carried out the characterization and quantification of the fractions of storage proteins present in the seed parota addition to the analysis of the chemical composition of it. The analysis and quantification fractions showed that the albumin fraction is the most abundant with respect to the other fractions, the electrophoretic pattern in molecular weights ranging from 13 kDa to 180 kDa are observed, for furthermore in protein quantification by the method of Bradford, albumin fraction as the majority of the 5 fractions 138.35 mg / g flour stands, the above outlined it as a good prospect for study in the search for peptides functional. The proximate analysis showed that parota seed has a high protein value, which could be considered a good alternative source of protein.

### Palabras clave:

Parota, leguminosas, proteínas de reserva.

### Keywords:

Parota, legumes, storage proteins.

**Área:** Microbiología y Biotecnología.

### INTRODUCCIÓN:

#### Parota (*Enterolobium Cyclocarpum*)

La parota (*Enterolobium cyclocarpum*) es una leguminosa Nativa de México (Francis, 1988), se encuentra a lo largo de la vertiente del Golfo de México desde el sur de Tamaulipas hasta la Península de Yucatán y en la costa del Pacífico desde Sinaloa hasta Chiapas. Los nombres comunes de la parota son: guanacastle, guanacaste, cocanaste, necaste y cuaunacastli. El árbol de parota llega a medir de 20-30m de altura y un diámetro de 2 a 3 m con ramas ascendentes y copa hemisférica, y entre los meses de abril y junio se le desprenden los frutos

que son semillas envueltas en su vaina (Distancia, 2008). La vaina de este árbol es ancha, aplanada, curva e indehisciente, y dentro de esta trae consigo de 10 a 15 semillas de 7 a 12 cm de diámetro ovoides y aplanadas de 2.3 a 4.5 cm de largo, pardas brillantes con una línea pálida con forma del contorno de la semilla cuyo valor nutricional radica en su contenido de proteínas de hasta 200-400 g/kg (Distancia, 2008; Jiménez *et al.*, 2011).

### **Proteínas**

Las proteínas son el principal componente estructural y funcional de las células y tienen numerosas e importantes funciones dentro del organismo (Martínez y Martínez 2006). Las proteínas de origen vegetal presentan ciertas ventajas en comparación con las proteínas de origen animal, por ejemplo el bajo costo de producción, se pueden almacenar durante periodos largos y son fáciles de manejar y transportar. En términos de balance de aminoácidos esenciales las proteínas de origen animal poseen generalmente mejor calidad nutricional (Sandoval, 2012).

### **Proteínas de reserva**

Las proteínas de reserva son definidas como: cualquier proteína que se sintetiza y acumula en grandes cantidades durante el desarrollo y maduración de las semillas, se almacenan dentro de compartimentos subcelulares llamados cuerpos proteínicos, son rápidamente hidrolizadas durante la germinación para proveer una fuente reducida y provisional de nitrógeno durante los estados tempranos de desarrollo y crecimiento de la plántula (Shewry *et al.*, 1995).

Las proteínas de las semillas se han clasificado tradicionalmente a través de la extracción secuencial, el criterio principal y más utilizado ha sido el propuesto por Osborne (1925) quien los divide en grupos de acuerdo a su extracción y solubilidad (Fukushima, 1991; Shewry *et al.*, 1995; Mandal y Mandal, 2000).

Las proteínas de reserva se clasifican en Albuminas, Globulinas 7s y 11s, Prolaminas y por ultimo Glutelinas.

Las albuminas, este término se aplicó inicialmente a las proteínas vegetales que se parecían a la albúmina de huevo de gallina en ser coagulable, pero posteriormente se restringió a las proteínas que eran solubles en agua y coagulable por calor. Osborne llegó a la conclusión de que las albúminas están generalmente presentes en pequeñas cantidades en las semillas (Shewry y Casey, 1999).

Las globulinas son el grupo de proteínas de reserva más ampliamente distribuido, conforma la mayor parte de las proteínas en ciertos granos, por lo que han sido ampliamente estudiadas, principalmente en leguminosas como chícharo, habas, soya y frijol. Las globulinas pueden ser divididas en dos grupos basados en sus coeficientes de sedimentación: las 7S tipo vicilina globulinas y las 11S tipo legumina globulinas (Shewry *et al.*, 1995).

Las globulinas 7s son proteínas triméricas cuyo peso molecular varía de 150 a 190 kDa (Shewry, 1995). Las proteínas de reserva de la clase globulina 7S se han identificado en las semillas de un número de cereales. Por otra parte globulinas 11S son las principales proteínas de reserva, no sólo en la mayoría de las legumbres, sino también en muchas otras dicotiledóneas (por ejemplo, Brassica, compositis y cucurbitáceas) y algunos cereales (avena y arroz) (Shewry *et al.*, 1995).

Por otro lado, las glutelinas encuentran agregadas en complejos de muy alto peso molecular que aún en presencia de solventes drásticos son difíciles de disolver, y al igual que las prolaminas, generalmente son las encargadas de las propiedades reológicas, como conferir elasticidad y viscosidad a los alimentos.

### **MATERIALES Y METODOS**

#### **Material Biológico**

- Semilla de parota (*Enterolobium cyclocarpum*) obtenidas en el estado de Colima.

#### **Químico proximal**

El análisis químico proximal se llevó a cabo mediante la metodología reportada por la AOAC (1990). Los parámetros determinados fueron: humedad, cenizas, extracto etéreo, nitrógeno total por el método de Kjendhal, fibra cruda y carbohidratos.

#### **Extracción de proteínas**

La extracción de proteínas se realizó de acuerdo con lo reportado por Aguirre *et al.*, (2012).

#### **SDS PAGE**

La electroforesis de proteínas SDS-PAGE (Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis) se realizó de acuerdo con el método reportado por Laemmli (1970). Todos los geles fueron al 12.5% de poliácridamida y se corrieron en un sistema Mini-Protean tetra de Biorad. Posteriormente se les aplicó un proceso de tinción con azul brillante de Commaie.

#### **Cuantificación de proteínas solubles**

Todas las fracciones de proteínas se cuantificaron con el kit Protein assay de Biorad (Hercules, California) de acuerdo con las especificaciones del fabricante.

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

#### **Análisis Químico Proximal**

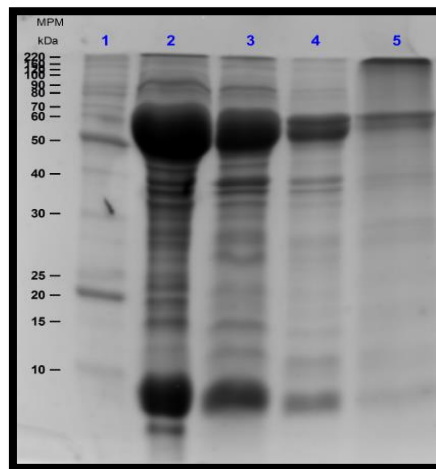
La composición proximal en base húmeda de la semilla completa de parota se presenta en la Tabla I, cada análisis se realizó por triplicado de acuerdo a la metodología reportada por la AOAC (1990). Los datos del análisis químico de la parota son comparables con los otras leguminosas, por ejemplo, Maya en 2009 reporta resultados similares en el contenido proteico para el frijol pinto y haba, aunque para el caso de proteína de la parota inclusive son valores mayores en 7 y 4 % respectivamente Maya, (2009).

**Tabla I.** Composición química de la semilla de parota comparada con otras leguminosas.

SEMILLA	COMPONENTE (%)					
	Ceniza	Humedad	Proteína	Grasa	Carbohidratos	Fibra cruda
PAROTA	3.805	16.04	28.71	2.09	55.47	9.92
HABA	3.3	10.6	24.8	1.4	60.4	7
GARBANZO	2.7	10.7	19.5	5.7	61.7	4
FRIJOL PINTO MEXICANO	3.6	10.3	21.4	1.2	64.1	5
FRIJOL SOYA	2.6	10	34.1	17.7	33.5	4.1

### Perfil Electroforético

La extracción de proteínas se lleva a cabo de acuerdo con lo reportado por Aguirre, *et al.*, (2012). La extracción se realizó de acuerdo a la solubilidad. Se logró extraer 4 de las 5 fracciones para las prolaminas no se logró extraer por la baja concentración que esta fracción tiene en la semilla, lo cual comprobamos con la cuantificación de dicha fracción.



**Figura 1** Perfil electroforético de las distintas fracciones de la semilla de parota. Carril 1) Marcador de peso molecular (BenchMark, Life Technologies), carril 2) Albúminas, carril 3) Globulinas 7s, carril 4) Globulinas 11s y carril 5) Glutelinas.

En la fracción de albúminas se distingue una gran cantidad de bandas de distintos pesos moleculares con pesos que varían desde los 10 kDa hasta los 180 kDa. La fracción de globulinas 7s mostró un patrón muy similar al de las albúminas donde se distinguen 7 bandas de mayor concentración que varía desde los 10 kDa a los 90 kDa y de menor concentración desde los 13 kDa hasta los 180 kDa de peso molecular aproximadamente. En la fracción de globulinas 11s se distinguen 5 bandas de mayor concentración que varía desde los 10 kDa a los 60 kDa de peso molecular, y en menor concentración de los 12 kDa a los 180 kDa de peso molecular. La fracción de las glutelinas se observan 3 bandas en mayor concentración de los 50 kDa a 200 kDa de peso molecular aproximadamente, y en menor concentración bandas de

10 kDa a 45 kDa, estas concentraciones se dan de acuerdo a lo marcada que se encuentra la línea en las bandas.

Se han encontrado patrones similares para otras leguminosas, para la fracción de albuminas según lo reportado por Raya *et al.*, (2014) en el frijol bayo (*Phaseolus vulgaris L*), se encontraron 9 bandas de acuerdo con el autor de pesos 90,50,40,35,32,29,25,20,10 kDa.

### Cuantificación de proteínas.

Se cuantificaron las mediante el método de Bradford, utilizando una curva estándar de BSA (bovine serum albumin) para determinar la cantidad de proteína presente en cada fracción con un coeficiente de correlación ( $R^2$ ) de 99%. En la tabla II se muestran los resultados de rendimiento de extracción de las diferentes fracciones de proteínas de reserva de la semilla de parota.

**Tabla II** Cuantificación proteínica total y de las fracciones de las proteínas de reserva de la semilla de parota.

FRACCIÓN	PROTEÍNA (MG/G DE HARINA)	PORCENTAJE DE LAS FRACCIONES SOLUBLES
ALBÚMINAS	138.35	42.93%
GLOBULINAS 7S	65.36	20.28%
GLOBULINAS 11S	39.9	12.38%
GLUTELINAS	56.6	17.56%
PROLAMINAS	22	6.82%
<b>PROTEÍNA TOTAL</b>	<b>65.5</b>	

Se puede observar que las albúminas representan la fracción más abundante seguidas de las globulinas 7s y las glutelinas. Por otro lado en la fracción de prolaminas fue en la que se encontró menor cantidad de proteína cuantificada. Los valores de la cuantificación colocan con los valores más bajos a las glutelinas y prolaminas con 17.56 y 6.82 % valores bajos comparados por lo reportado por Martínez y col. (2005) para arroz que fueron de 48.89 y 17.24 % para glutelinas y prolaminas respectivamente, valores esperados ya que la parota es una leguminosa. Por otra parte Hernández y col. (1996) documentan para el frijol una leguminosa, en globulinas un 27 % del total de las fracciones solubles, valores similares a los reportados en este trabajo para la misma fracción pero para la parota.

### CONCLUSIONES

El elevado contenido proteico obtenido por la cuantificación y por el análisis químico proximal, indican que el consumo de semillas de parota *Enterolobium cyclocarpum* puede constituir una fuente atractiva de proteínas para el consumo humano y animal por su alto contenido proteico.

El perfil electroforético aunado a los resultados obtenidos de la fracción proteínica señala que la fracción de albúminas posee mayor cantidad de proteínas. La cuantificación de proteínas mostró que la fracción mayoritaria fue la de las albuminas perfilándola como un buen modelo de estudio para la identificación de péptidos bioactivos.

## REFERENCIAS

- Aguirre C. Torres I. Mendoza-Hernandez, G. Garcia-Gasca, T. Blanco-Labra, A. 2012. Analysis of Protein Fractions and some minerals present in Chan (*Hyptis suaveolens L.*) Seeds. Journal of Food Science. Vol. 71.
- Association of Official Analytical Chemists (A.O.A.C). 1990. Official Methods of Analysis of the AOAC, 13 th .Edited By Dr. Helrich, W. Washington, D.C. U.S.A.
- Distancia-Carbajal, O. 2008. Evaluación del crecimiento de una plantación experimental de 1992 al 2005 de *Cadrela odorata*, *Swietenia macrophylla*, *Enterolobium cyclocarpum* y *Tubebuia rosea* en la costa de Jalisco. Universidad de Guadalajara. División de Ciencias Biológicas. 92 pp.
- Francis J. K. 1988. *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb. Guanacaste, earpod-tree. SO ITF-SM-15. New Orleans, LA: U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Southern Forest Experiment Station. 195-199.
- Fukushima, D. 1991. Structures of plant storage proteins and their functions, Food Reviews International, 7:3, 353-381.
- Jiménez-Hernández, J. Meneses-Esparza, F. Rosendo-Escobar, J. Vivar-Vera, M. A. Bello Pérez, L. A. García-Suárez, F. J. 2011. Extracción y caracterización del almidón de las semillas de *Enterolobium cyclocarpum*. Journal of Food, 9:2, 89-95.
- Laemmli, U.K. 1970. Cleavage of structural protein during the assembly of head of bacteriophage T4. Nature. 227:680-685.
- Maya-Ocaña, K. 2009. Caracterización física, nutricional y no-nutricional de haba sometida a tratamiento térmico. Tesis de Maestría. Instituto Politécnico Nacional. México, D.F. 153p.
- Mandal Surekha and Mandal R. K. 2000. Seed storage proteins and approaches for improvement of their nutritional quality by genetic engineering. Department of Biochemistry. Current science. Vol. 79, no. 5.
- Martínez, A. L., Ventura, E., Maldonado, U., Sánchez, M. M., Bazaldúa, C., & Del Villar, A. A. (2005). Caracterización de las proteínas de reserva y cultivo de anteras para el desarrollo de genotipos de arroz de alta calidad nutricional. Biotecnología aplicada, 22(1), 37-40.
- Martínez-Augustin, O. Martínez de Victoria Muñoz, E. 2006. Proteínas y péptidos en nutrición enteral. Instituto de nutrición y tecnología de los alimentos. Universidad de Granada. Pág.:1 14.
- Shewry, Peter R. Napier, Johnathan A. and Tatham, Arthur S. 1995. Seed Storage Proteins: Structures and Biosynthesis. The Plant Cell. Department of Agricultural Sciences. Vol. 7. pp. 945-956.