

Propiedades tecno-funcionales del aislado proteico y de harina de semilla de ramón (*Brosimum alicastrum*)

Domínguez-Zárata P. A.^a, Maillard-Berdeja K.V.^b, Totosa A.^{a*}

a Laboratorio y planta piloto de alimentos, Tecnológico de Estudios Superiores de Ecatepec, Av. Tecnológico esquina avenida central s/n, Ecatepec, Estado de México, 55210, México.

b Departamento de Biotecnología, Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa. Av. San Rafael Atlixco #86, Iztapalapa, Ciudad de México 09349, México.

* atotosaus@tese.edu.mx

RESUMEN:

La semilla de ramón, también llamada nuez maya, ha sido utilizada desde hace tiempo como alimento en el sureste del país y Centroamérica. Esta investigación se centró en estudiar las propiedades de tecno-funcionales de un aislado proteico y de harina semilla de ramón, comparándola con harina de trigo o maíz. Al aislado proteico se le determinó la solubilidad en función del pH, fuerza iónica y concentración de proteína, y propiedades de emulsión. A las harinas se les determinó la capacidad de absorber agua, la capacidad de retención de aceite y la concentración mínima para gelificar. El aislado proteico fue soluble en un amplio rango de fuerza iónica y pH, lo cual se vio reflejado en las propiedades de emulsión. La harina de ramón presentó valores más bajos en absorción de agua en contraste con valores más altos de retención de aceite. La harina de semilla de ramón necesitó de más proteína para formar un gel y tuvo el rango más bajo de concentración. La alta solubilidad y las propiedades de emulsión del aislado proteico puede explicar este comportamiento. La harina de semilla de ramón podría utilizarse para la sustitución parcial en productos como la tortilla y el pan.

ABSTRACT:

Ramón tree seed, or maya nut, has been employed as a food resource in southeast and Central America for long time. This research studied the techno-functional properties of ramón seed protein isolate and flour, to compare with wheat flour or maize flour. To the protein isolate the solubility was determined in function of pH, ionic strength and protein concentration, besides the emulsifying properties. To the flours the water holding capacity, oil retention capacity and minimum concentration to form a gel were determined. Protein isolate was soluble in a wide range of pH and ionic strength, reflected in the emulsion properties. Ramón seed flour presented to lower values for water holding but the higher values in oil retention, with the lower range to form a gel. Higher solubility and emulsion properties could explain this behavior. Ramón seed flour can be employed to partial substitution in tortillas or bread..

Palabras clave: *Brosimum alicastrum*, ramón, propiedades tecnofuncionales, aislado proteico, harina.

Key words: *Brosimum alicastrum*, maya nut, tecnofunctional properties, protein isolate, flour.

Área: Cereales, leguminosas y oleaginosas.

INTRODUCCIÓN

El maíz y el ramón fueron, en tiempos ancestrales, las principales fuentes de alimentación de la población Maya, donde los mayas cultivaron extensivamente el árbol y lo utilizaron como parte de su dieta diaria (Ortiz y col., 1995). El árbol de ramón (*Brosimum alicastrum*) es uno de los mayores miembros vegetales perennes y caducifolio del sur de México; además de ser uno de los más extensamente distribuidos en el país (Peters y Pardo-Tejeda, 1982). Por su adaptabilidad se encuentra distribuido en 18 estados de la república mexicana desde Sonora hasta Chiapas y de Tamaulipas hasta Yucatán y la región del Caribe en Quintana Roo (Meiners y col., 2009). Prospera en lugares montañosos, con temperatura de hasta 27 °C y precipitación pluvial de aproximadamente 4,000 mm (Chiapas y Tabasco). La semilla está cubierta por esta testa y como característica principal es su color, el cual es de un tono gris-verdoso en estado fresco, cuando la semilla está seca la recubre una pequeña película de color café claro (Peters y Pardo-Tejeda, 1982; Ortiz y col., 1995).

De este modo, una alternativa como fuente de proteína en la dieta es la semilla de ramón, también conocida como nuez maya, la cual cuenta con un buen potencial nutricional (Ramírez-Sánchez y col., 2017). La semilla de ramón, o nuez maya, es un fruto perteneciente a la familia de las moraceae, se encuentra mayormente en las regiones del sureste de México, principalmente en los estados de Chiapas, Tabasco y Yucatán. Esta especie vegetal está considerada como una especie subutilizada y subvalorada debido a que no está disponible comercialmente como el maíz o el frijol y que solo las comunidades indígenas con conocimientos de su uso la aprovechan (Padulosi y col., 2013). La semilla de ramón es comestible, hervida o tostada, y se comen solas o con maíz, miel o plátano, en forma de bebidas fermentadas o calientes como atol. Tostadas y molidas se usan como sustituto de café, y las semillas molidas hacen una harina negra usada para confeccionar pan o tortillas. También se utiliza como forraje. A este respecto, se ha reportado que existe una composición notablemente similar entre sorgo (*Sorghum vulgare*) y ramón, especialmente en lo referente a proteína cruda y a extracto libre de nitrógeno. El contenido de fibra cruda y cenizas es superior para el ramón. En el caso de los aminoácidos del ramón, los contenidos de lisina y de treonina son muy similares a los observados en el sorgo, lo que sugiere que también serán limitantes en las dietas. El contenido de triptófano en el ramón es más de tres veces superior al del sorgo, aminoácido limitante en alimentación animal. En dietas para cerdos y aves, la similitud en la composición del sorgo y el ramón demostró tener un bajo contenido de energía metabolizable (alta ganancia de peso y eficiencia de conversión sin incrementar el consumo de alimento) (Lozano y col., 1978; Ramírez y col., 1978). Su uso como alimentos en personas es más reciente, pero más limitado. La ingesta de harina de semilla de ramón disminuyó el índice glicémico en mujeres de 25-30 años, debido a la presencia de almidón resistente, la baja digestibilidad de proteínas y grasa. Por ende, el bajo índice glicémico de la semilla procesada (tostada o cocida). Sin embargo, la digestibilidad en ratas evidenció una pérdida de peso consistente (Arévalo Salguero y Bressani, 2013). Estudios recientes sobre la obtención y caracterización del almidón indican que debido a su comportamiento térmico se puede considerar como un ingrediente en la formulación de alimentos en los cuales las altas temperaturas (pasteurización) son necesarias para su cocción (Pérez-Pacheco, y otros, 2014). El uso del ramón en la generación de nuevos materiales termoplásticos resultó en una coloración oscura debido a las proteínas, carbohidratos y compuestos fenólicos propios de las semillas la producción de las películas (Ríos-Soberanis y col., 2016).

El objetivo de este trabajo fue primeramente determinar las propiedades de solubilidad y emulsión de un aislado proteico de harina de semilla de ramón, determinando después las propiedades tecno-funcionales de la harina y la posible correlación entre estas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención del aislado proteico de ramón

La harina de ramón Maya Óox se adquirió de la Sociedad de Producción Rural Kishur (Chocholá, Yucatán, México). La obtención del aislado proteico se llevo a cabo de acuerdo a la metodología descrita por Onayemi y Lorenz (1978), con algunas modificaciones. La harina de ramón se solubilizó a una proporción de 1:4 (p/v) con agitación magnética a pH 9 utilizando por una hora, para después centrifugar a 2,100xg por 45 minutos. El precipitado se resuspendió a pH de 4.5 por una hora en agitación magnética y se centrifugó a 2,100xg por 30 min. La humedad del precipitado se eliminó en horno a 35-40 °C por 24 horas, se molió, tamizó y se guardó un recipiente hermético.

Propiedades tecno-funcionales del aislado proteico

La solubilidad del aislado proteico se determinó cuantificando el efecto del pH, la fuerza iónica y concentración de proteína mediante un diseño de superficie de respuesta Box-Behnken (17 corridas con 5 repeticiones del punto central). El aislado proteico de harina de semilla de ramón (1, 3, y 5% p/v) fue resuspendido en 20 mL de solución buffer de fosfatos 100 mM (pH 5, 6 y 7) con diferentes valores de fuerza iónica (0, 0.3 y 0.6 M NaCl). Después de una de agitación y se centrifugó a 2,000xg durante 30 minutos. El contenido de proteína se determinó por el método de biuret (Gornall y col., 1948) antes de centrifugar y en el sobrenadante, reportando el porcentaje de solubilidad en relación a la concentración antes de centrifugar. Los resultados se analizaron en el demo del programa estadístico Desing Expert v. 11.0.

La capacidad de emulsión y el trabajo de emulsión se determinaron de acuerdo a lo descrito por Mena-Casanova y Totosaus (2011). A 15 mL de una suspensión de aislado proteico (3%, p/v) se le agregaron 10 mL de aceite de maíz y se homogenizó durante un minuto para adicionar de manera constante mas aceite (8 mL/s) con una bureta. Se monitoreó la resistencia eléctrica en Ohms con un multímetro digital, graficando la conductividad contra el tiempo hasta la inversión de fases (rompimiento de la emulsión). Se calcularon los mL totales de aceite emulsionados reportando la capacidad de emulsión en mL de aceite por gramo de proteína. Se calculó el área bajo la curva conductividad-tiempo, reportando el trabajo de emulsión ($k\Omega s$).

La determinación del índice de actividad de emulsión (IAE) fue por el método turbidimétrico reportado por Pierce y Kinsella (1978). A 6 mililitros de suspensión de aislado proteico (concentración de proteína de 5%, p/v, C) se le adicionaron 2 ml de aceite de maíz (3:1, fracción de aceite $\Phi = 0.25$). Se homogenizó por un minuto, se dejó reposar por un minuto, y se tomó una alícuota de 0.5 mL que se diluyó en 4.5 mL de una solución de SDS al 0.1%. Se leyó la absorbancia a 500 nm para calcular el IAE como= $2 (2.303 \text{ Abs})/\Phi C$

Propiedades tecno-funcionales de la harina de ramón

El desempeño tecno-funcional de la harina de ramón fue comparada con harina de maíz nixtamalizada de GIMSA (Grupo Industrial Maseca S.A. de C.V, San Pedro Garza, Nuevo León) y harina de trigo marca Selecta (Molinera de México S.A de C.V., Guadalupe, Nuevo León). Las propiedades a determinar de las harinas de ramón, trigo y maíz fueron la capacidad de absorción de agua, la capacidad de retención de aceite y la concentración mínima para gelificar. La capacidad de absorción de agua se determinó de acuerdo a la metodología descrita por Beuchat (1977). A dos gramos de harina se les agregaron 20 mL de agua en tubos de centrifuga de 50 mL previamente tarados. Se mezcló en un vortex por 2 minutos y se dejó reposar por 30 minutos. Las muestras se centrifugaron a 2,000xg por 45 minutos. La capacidad de retención de agua se reportó como el porcentaje de gramos de agua retenidos por gramo de harina. Para la capacidad de retención de aceite se pesaron dos gramos de harina en tubos de centrifuga de 50 mL previamente tarados. Se adicionaron 20 mL de aceite de maíz y se mezclaron en un vortex por 2 minutos y se dejaron reposar por 30 minutos. Las muestras se centrifugaron a 2000xg por 45 minutos. Se midió el volumen del aceite del sobrenadante reportando el porcentaje de aceite retenido por la muestra (Chakraborty, 1986). Diferentes concentraciones de harina (2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12%, p/v) se disolvieron en agua y se mezclaron en el vortex por dos minutos para determinar la capacidad mínima para gelificar. Se colocaron 15 mL de cada concentración en tubos de vidrio y se sometieron a baño maría a 90 °C por 20 minutos, enfriando después en baño de hielo por 15 min. La concentración mínima para gelificar se determinó de acuerdo a la capacidad de la solución de harina de formar un gel estable al invertir el tubo (Coffman y García, 1977). Describir en forma precisa el procedimiento realizado y los recursos empleados en ello.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Propiedades tecno-funcionales del aislado proteico de ramón

La Fig. 1 muestra la superficie de respuesta para la solubilidad del aislado de semilla de ramón en función del pH y fuerza iónica (c De acuerdo al análisis de los datos, de los términos lineales de la regresión solo la fuerza iónica tuvo un efecto significativo ($P < 0.05$), y las condiciones optimizadas para la máxima solubilidad fueron: fuerza iónica 0.46 M NaCl, pH 5.5 y 3% de concentración de proteína. En la ecuación de regresión se aprecia el signo negativo para el pH, sonde a valores más cercanos al punto isoeléctrico de las proteínas de semillas (4.5), la solubilidad es menor. A las condiciones experimentales, la solubilidad a pH arriba del punto isoeléctrico se mantuvo casi constante. El mayor efecto detectado fue por la fuerza iónica, ya que los iones modifican la conformación de las proteínas mejorando su solubilidad.

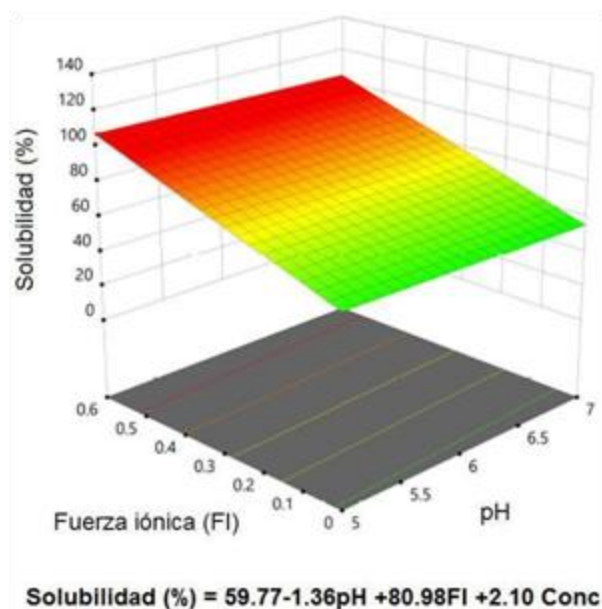


Figura 1. Superficie de respuesta para la solubilidad de la proteína de ramón (concentración de proteína= 2.74%)

En base a estos resultados se procedió a determinar las propiedades de emulsión del aislado de ramón a diferente fuerza iónica. La tabla 1 muestra los resultados para estas pruebas, donde se puede observar que el IAE permaneció constante a las diferentes concentraciones de NaCl. En contraste, el aumentar la concentración de NaCl disminuyó la capacidad de emulsión y el trabajo de emulsión del aislado de proteína de ramón. El IAE refiere al área que una cantidad determinada de proteína puede crear con una fracción de aceite fija, esto es relativo a la formación de la película proteica interfacial que estabiliza los glóbulos de aceite formados durante la emulsión.

Tabla 1. Resultados de índice de la actividad de emulsión (IAE), capacidad de emulsión (CE) y trabajo de emulsión (TE) de la proteína de ramón a diferentes concentraciones de fuerza (pH 5.5).

Fuerza iónica (M NaCl)	IAE (m ² /g)	CE (mL/g)	TE (KΩ s)
0.0	0.526	101.67	3,076
0.3	0.509	56.67	858
0.6	0.516	58.33	1,288

La capacidad de emulsión indica cuanto aceite puede emulsionar una cantidad de proteína, y en el caso del aislado de semilla de ramón a las condiciones experimentales se observó que presencia de iones disminuyó la capacidad de emulsionar aceite. Sin embargo, el trabajo de emulsión es la integral del área de la capacidad de emulsión, indicando el trabajo o la energía necesaria para emulsionar el aceite. De este modo, a pesar de que la cantidad de aceite que puede ser emulsionado es prácticamente la mitad a 0 M, el trabajo de emulsión es menor, es decir, menor aceite puede ser emulsionado pero debido a la presencia de iones la proteína fue más soluble y puede emulsionar más fácilmente al aceite añadido.

Propiedades tecno-funcionales de la harina de ramón

En la tabla 2 se muestra la capacidad de absorción de agua y la capacidad de retención de aceite. La harina de maíz presentó valores más altos en absorción de agua en comparación con la harina de trigo o harina de ramón, la cual tuvo los valores más bajos. En contraste, la harina de ramón presentó los valores más altos de retención de aceite en comparación con las harinas de maíz o de trigo. Las harinas de trigo y maíz tuvieron valores similares de retención de aceite. Para la formación de un gel autosoportable al invertir el tubo después del calentamiento, la

harina de trigo presentó la menor concentración y el mayor rango, seguida de la harina de maíz. La harina de semilla de ramón necesitó de mas proteína para formar un gel y tuvo el rango más bajo de concentración (arriba de 8% no se formó un gel).

Tabla 2. Comparación de la capacidad de absorción de agua (CAA), capacidad de retención de aceite (CRA) y concentración mínima para gelificar (CMPG) de las harinas de ramón, maíz y trigo

Harina	CAA (g de agua/g de harina)	CRA (mL de aceite/g de harina)	CMPG (% harina p/v)
Ramón	0.69	0.51	4-8
Maíz	1.16	0.39	3-9
Trigo	0.30	0.37	2-10

CAA, CRA y CMPG son propiedades importantes que afectan la humedad del producto final, su textura y apariencia. La composición (no determinada) de las harinas tiene un efecto sobre estas propiedades. Las diferentes proporciones de los componentes de la harina, los pocos lípidos, proteínas, carbohidratos y fibra, tienen diferente polaridad, afectando la cantidad de agua y aceite que estos componentes pueden absorber (Joshi et al., 2015). Durante el proceso térmico, la solubilización de los constituyentes de la harina y las interacciones entre los componentes afectan en la formación y fuerza del gel (Padilla y col., 1996).

CONCLUSIÓN

El aislado proteico de harina de semilla de ramón fue soluble en un amplio rango de fuerza iónica y pH (arriba de su punto isoeléctrico), lo cual se vio reflejado en las propiedades de emulsión. A mayor concentración de sal la formación de una película proteica interfacial y la capacidad de emulsionar aceite disminuyeron, pero la energía necesaria para emulsionar fue menor. En cuanto a la harina de semilla de ramón, la capacidad de absorber agua fue mayor a la de la harina de trigo, factor que debe ser considerado para incorporar esta harina en alimentos como pan, de manera que no afecte las propiedades del producto final. En la retención de aceite, la proteína de la semilla de ramón posiblemente ayudó a mejorar este parámetro. La alta solubilidad y las propiedades de emulsión del aislado proteico puede explicar este comportamiento. En comparación con la harina de maíz o de trigo, la semilla de ramón tuvo menor capacidad de formar un gel, ya sea por la gelatinización de su almidón o interacción de las proteínas, debido probablemente a las características termoplásticas del almidón de la semilla de ramón ya reportados. De acuerdo a los resultados arrojados del estudio de las propiedades funcionales de la harina de ramón podría recomendarse en la utilización para el enriquecimiento o sustitución parcial en productos de consumo diario tales como la tortilla y el pan para mejorar sus propiedades texturales sin afectar su aceptación.

BIBLIOGRAFÍA

- Beuchat, L. R. (1977). Functional and electrophoretic characteristics of succinylated peanut flour protein. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 25(2), 256-260.
- Chakraborty, P. (1986). Coconut protein isolate by ultrafiltration. En *Food Engineering and Process Applications*, Vol. 2. M. LeMeguer y P. Jelen, editores. Nueva York: Elsevier Applied Science Publishers, 308-315.
- Coffmann, C. W. & García, V. V. (1977). Functional properties and amino acid content of a protein isolate from mung bean flour. *International Journal of Food Science and Technology*, 12, 473-484.
- Gornall, A. G, Bardawill, C. J. & David, M. M (1948). Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *Journal of Biological Chemistry*, 177 (2), 751-766
- Joshi, A. U., Liu, C, & Sathe, S. K. (2015). Functional properties of selected flours. *LWT-Food Science and Technology*, 60, 325-331.

- Lozano, O., Shimada, A. S., Avila, E. (1978). Valor alimenticio de la semilla del ramón (*Brosimum Alicastrum*) para el pollo y el cerdo. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 34, 100-104.
- Meiners, M. C., Sánchez-Garduño, C. & De Blois, S. (2009.). El ramón: fruto de nuestra cultura y raíz para la conservación. *Biodiversitas*, 87, 7-10.
- Mena-Casanova, E. & Totosaus, A. 2011. Improvement of emulsifying properties of milk proteins with κ or λ carrageenan: effect of pH and ionic strength. *International Journal of Food Science and Technology*, 46, 535-541.
- Onayemi, O. & Lorenz, K. (1973). Soy concentrate and soy isolate in bread backing. *Bakers Digest*, 12, 18-24.
- Ortiz, M., Azañón, V., Melgar, M., & Elias, L. (1995). The corn tree (*Brosimum alicastrum*): a food source for the tropics. *World Review in Nutrition and Diet*, 77, 135-146.
- Padilla, F. C., Álvarez, M. T., & Alfaro, M. J. (1996). Functional properties of barinas nut flour (*Caryodendron orinocense* Karst., Euphorbiaceae) compared to those of soybean. *Food Chemistry*, 57(2), 191-196.
- Padulosi S., Thompson J., & Rudebjer P. (2013). Fighting poverty, hunger and nutrition with neglected and underutilized species (NUS): needs, challenges and the way forward. *Biodiversity International*, Rome.
- Pearce, K. N., & Kinsella, J. N. (1978). Emulsifying properties of protein: evaluation of a turbidimetric technique. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 26 (3), 716-723.
- Pérez-Pacheco, E., Moo-Huchin, V. M., Estrada-León, R. J., Ortiz-Fernández, A., May-Hernández, L. H., Ríos-Soberanis, C. R., & Betancur-Ancona, D. (2014). Isolation and characterization of starch obtained from *Brosimum alicastrum* swarts seeds. *Carbohydrate Polymers*, 101, 920-927.
- Peters, C. M., & Pardo-Tejeda, E. (1982). *Brosimum alicastrum* (Moraceae): uses and potential in México. *Economic Botany*, 36(2), 166-175.
- Ramírez, J. H., Lozano Oscar, A., Avila, E., & Shimada S.A. (1978). Valor energético de la semilla del Ramón (*Brosimum Alicastrum*) en dietas para aves. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias* 35: 43-47
- Ramírez-Sánchez, S., Ibáñez-Vázquez, D., Gutiérrez-Peña, M., Ortega-Fuentes, M. S., García-Ponce, L. L., & Larqué-Saavedra, A. (2017). El ramón (*Brosimum alicastrum* Swartz) una alternativa para la seguridad alimentaria en México. *Agroproductividad*, 10 (1), 80-83.
- Ríos-Soberanis, C. R., Estrada-León, R. J., Moo-Huchin, V. M., Cabrera-Sierra, M. J., Cervantes-Uc, J. M., Bello-Pérez, L. A., & Pérez-Pacheco, E. (2016). Utilization of ramon seeds (*Brosimum alicastrum swarts*) as a new source material for thermoplastic starch production. *Journal of Applied Polymers Science*, 133, 44235.