

## Estudio de los cambios estructurales de las proteínas de tepejilote por efecto de diferentes tratamientos térmicos

J.B.E. Hernández-Castillo<sup>1</sup>, A. Bernardino-Nicanor<sup>1</sup>, M. A. Vivar-Vera<sup>2</sup>, O. Campos Herrera, L.P. Ortiz-Camacho, L. González-Cruz<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Tecnológico Nacional de México-Instituto Tecnológico de Celaya. Departamento de Ingeniería Bioquímica. Antonio García Cubas Pte. #600 esq. Av. Tecnológico. C.P. 38010. Celaya. Guanajuato. México.

<sup>2</sup> Tecnológico Nacional de México-Instituto Tecnológico de Tuxtpepex. Departamento de Ingeniería Bioquímica.

\*leopoldo.gonzalez@itcelaya.edu.mx

### RESUMEN

La inflorescencia masculina del tepejilote (*Chamaedorea tepejilote* Liebm), es un alimento tradicional en el Sur de México y Centroamérica, las cuales son consumidas después de ser sometidas a diversos tratamientos térmicos. Se ha reportado una concentración importante de proteína, dentro del intervalo de 24.19 a 26.72 %, similar a la concentración de alimentos tales como las leguminosas y los cereales. Sin embargo, hasta el momento no existen reportes de las características tanto química como biológica, de las proteínas del tepejilote, así como las posibles actividades biológicas que pudieran brindar a quienes las consumen, ya que se ha indicado que el tepejilote presenta efectos antimicrobacteriano, hipoglucemiante y antitusivo. Por otra parte, los tratamientos térmicos pueden generar cambios estructurales en sus componentes químicos, que incidirían de manera directa en sus posibles actividades biológicas, por esta razón, el objetivo del presente estudio fue determinar por medio de técnicas espectroscópicas (FT-IR y FT-Raman), las modificaciones que se originan en el aislado proteínico después de someter las inflorescencias a un tratamiento dual de extracción. Se observó de acuerdo a los resultados obtenidos, se observa que existen modificaciones en las características estructurales de las proteínas de tepejilote, que pueden ser identificadas por medio de técnicas espectroscópicas.

**Palabras clave:** Tepejilote, ultrasonicación, proteínas.

**ABSTRACT:** The tepejilote male inflorescences (*Chamaedorea tepejilote* Liebm) are a traditional food in the south of Mexico, and Central America, which are consumed after a thermal treatment. In their nutritional composition have reported a important protein content (about 25 %), similar content to the reported in other sources such as cereals or legumes, however, until now, their protein structure has not been characterized, which could have an important biological activity, since previous research has demonstrated the antimicrobial, hypoglycaemic and antitussive effect of this palm. However the thermal treatment can generate structural changes, for this reason the goal this study was to determine the changes in tepejilote proteins by a dual treatment (thermal treatment and ultrasonication), through the FT-IR and Raman spectroscopy. The result showed that diverse modifications were generated by the dual treatment and that the spectroscopic techniques used, are complementary in the identification of the principal modifications

**Keywords:** Tepejilote, inflorescences, proteins.

**Área:** Alimentos funcionales

### INTRODUCCIÓN

La palma de pacaya o tepejilote (*Chamaedorea tepejilote* Liebm.), es una especie silvestre originaria de América Central. Crece en las selvas altas perennifolias y subperennifolias, son propias del sotobosque, pues requieren de sombra, suelos pedregosos y abundante materia orgánica para desarrollarse. Pertenecen a la familia *Arecaceae*, grupo que cuenta con 200 géneros y 3000 especies alrededor del mundo, forma parte del género *Chamaedorea*, originario y exclusivo del continente americano siendo el más diverso de este género, con 50 especies presentes en el país, del cual forma parte *Chamaedorea tepejilote* (Magaña-Alejandre y González-Hernández, 2017).

La palma se caracteriza por ser una planta solitaria y que puede alcanzar una altura de hasta 5 metros, sus tallos son cespitosos con un grosor de entre 3 y 10 cm, presenta de 4 a 7 hojas en su conformación, las cuales son de color verde, pinnadas con una longitud de aproximadamente 1.50 m, presentando un

ligero canal en la base. Sus inflorescencias son ramificadas y tienen una longitud entre 25 y 60 cm, con presencia de brácteas. Las inflorescencias del tepejilote se dividen en masculinas y femeninas, las primeras se caracterizan por su coloración de verde a amarillo y contar con 50 raquillas y varias agrupaciones de flores, las segundas se caracterizan por tener una coloración anaranjada y un menor número tanto de raquillas como de agrupaciones florales. Sus frutos tienen forma elipsoide a ovoide y cuando son inmaduros presentan una tonalidad azul-verdoso, tornándose a negro una vez que maduran (PALMweb, 2018).

Para el consumo como alimento, solo se utiliza la inflorescencia masculina lo cual se remonta a la época prehispánica y en la actualidad su consumo sigue siendo importante y de forma tradicional en comunidades indígenas, principalmente de Chiapas, Veracruz y Oaxaca. Dentro de las formas de preparación de la inflorescencia, se encuentran el tepejilote asado, hervido, envuelto en huevo o inmerso en una salsa a base de tomate. A la inflorescencia de tepejilote, actualmente se le atribuyen distintas actividades nutraceuticas como son la hipoglucemiante, la antimicobacteriana y la antitusiva (Castillo-Mont *et al.*, 2017; Centurión-Hidalgo *et al.*, 2009; Riquett-Robles *et al.*, 2013). Sin embargo, considerando su alto contenido proteínico, actualmente no existen estudios enfocados en determinar los efectos que tienen distintos tratamientos hidrotérmicos sobre la estructura de la proteína y si la utilización de un tratamiento de ultrasonificación, genera un mayor rendimiento en la extracción de proteínas, por lo cual en el presente trabajo se determinó por medio de técnicas espectroscópicas (FT-IR y FT-Raman), las modificaciones que se originan en el aislado proteínico después de someterlas a un tratamiento dual de extracción (tratamiento hidrotérmico y ultrasonificación) y su impacto sobre la concentración de proteína recuperada.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Materia vegetal

Inflorescencias masculinas de tepejilote provenientes del municipio de Tapachula, en el estado de Chiapas, fueron recolectadas durante los meses de enero y febrero, de las cuales se seleccionaron aquellas que presentaron un color amarillo opaco y se descartaron aquellas de tonalidad verde.

Las inflorescencias seleccionadas, fueron troceadas en cubos de aproximadamente 0.5 cm de lado. Posteriormente el lote de inflorescencias troceadas, fue dividido en muestras de 300 g aproximadamente, las cuales fueron colocadas en bolsas de polietileno y se sellaron al vacío y almacenadas en refrigeración por no más de 24 h, para su posterior utilización

### Tratamientos hidrotérmicos de presión de vapor

Las muestras de inflorescencias de tepejilote troceadas (300 g) envasadas al vacío, se sometieron a un tratamiento hidrotérmico a vapor saturado en una olla de presión durante 15 minutos, a una presión de 18 lb/in<sup>2</sup> y temperatura de 124°C, se enfriaron a temperatura ambiente y fueron congeladas a -20 °C

Se utilizó una muestra de tepejilote fresco (300 g) como control, con la finalidad de comparar el efecto del tratamiento térmico sobre las características espectroscópicas y microestructurales de sus proteínas.

### Obtención de harina

La muestra sometida al tratamiento hidrotérmico y congeladas a -20°C, fue liofilizada. Una vez que se deshidrató fue molida y tamizada en una malla 80.

### Ultrasonificación

La muestra liofilizada del tratamiento hidrotérmico y la muestra en fresco, fueron sometidas a un proceso de desengrasado, para lo cual 14 g de harina se disolvieron en 182 mL de hexano (relación 1:13; muestra:hexano), la mezcla se colocó en un baño ultrasónico ajustado a una temperatura de 50 °C; 1500 watts de potencia durante 20 min.

Muestras liofilizadas de los distintos tratamientos térmicos y la muestra en fresco, se sometieron a un proceso de desengrasado utilizando un proceso de agitación con hexano en la relación 1:13 sin tratamiento de ultrasonificación, las cuales fueron consideradas como muestras control.

Las mezclas de harina-hexano fueron filtradas, la harina retenida se recuperó y el remanente de disolvente, fue evaporado a temperatura ambiente.

### **Obtención de aislado proteínico (Precipitación por punto isoeléctrico)**

Se utilizó una relación 1:20 harina: agua (p/V) se colocó en un reactor durante 45 min a 37°C con agitación constante. Se ajustó el pH a 12 con NaOH, se sometió a centrifugación a 6000 rpm por 30 min, se recuperó el sobrenadante y se ajustó el pH a 2, se sometió a enfriamiento hasta 4°C y centrifugo a 6000 rpm por 30 min, recuperando el precipitado de acuerdo a la metodología descrita por Bernardino-Nicanor *et al.*, 2001.

### **Espectroscopía de infrarrojo**

Los espectros de las proteínas de las inflorescencias de tepejilote se obtuvieron por medio de espectroscopía de infrarrojo de transformada de Fourier (FT-IR) en un espectrofotómetro Perkin Elmer FT-IR (Perkin Elmer, Inc., MA, EE. UU.), utilizando discos de bromuro de potasio (KBr) preparados a partir de muestras mezcladas con KBr seco. Los espectros se registraron (16 exploraciones) en modo transparente a una resolución de 4000–400  $\text{cm}^{-1}$ .

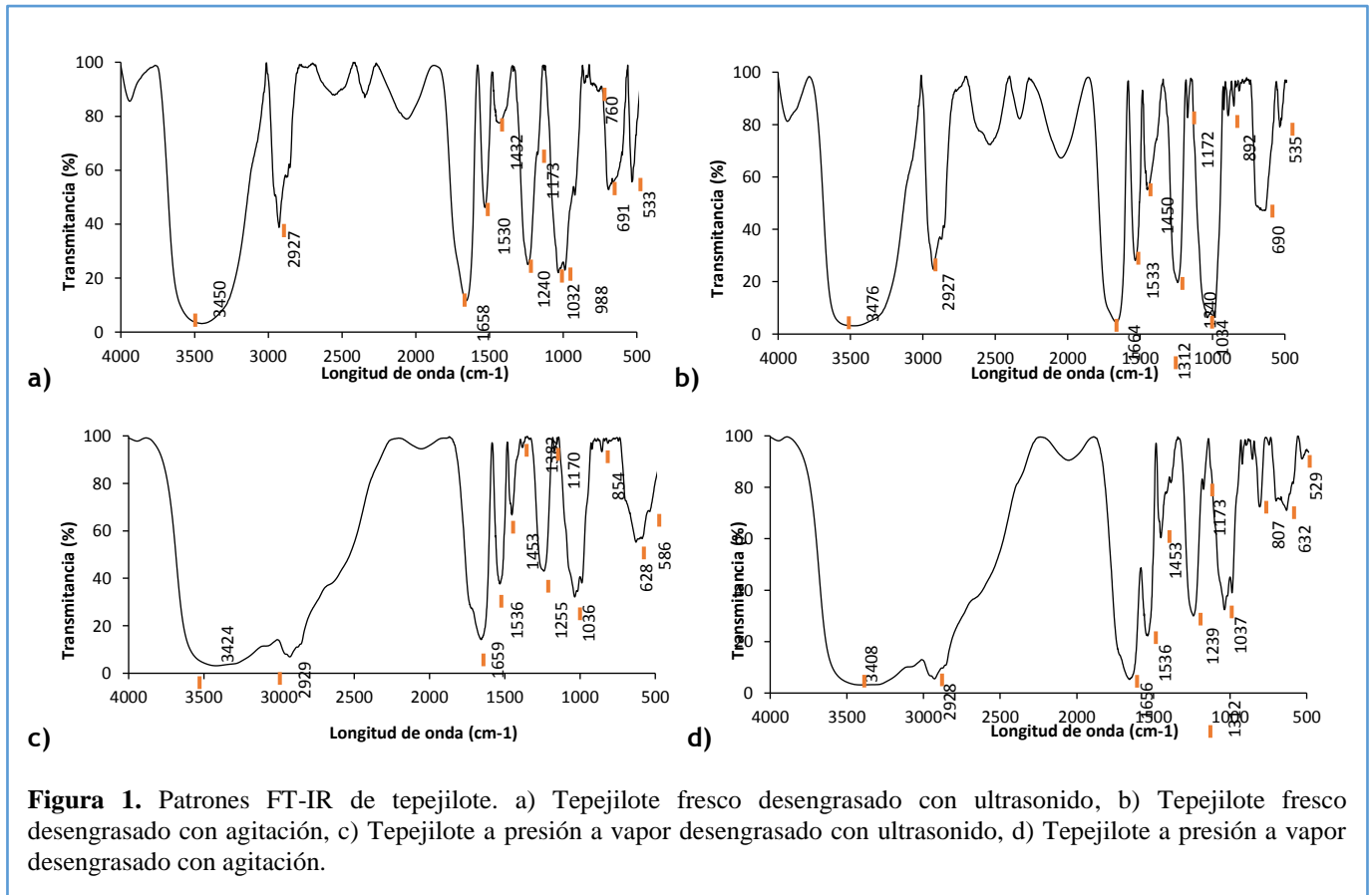
### **Espectroscopía Raman**

Las mediciones de Raman se realizaron en un espectrómetro Raman 2000R NIR FT-Perkin-Elmer (Perkin Elmer, Inc., MA, EE. UU.), equipado con un láser Nd: YAG a una longitud de onda de 1,064 nm y un detector InGaAs. Para estos análisis, se utilizó geometría refractiva de retrodispersión de 180°. El espectrómetro se manejó con el software Perkin-Elmer Spectrum. Los datos adicionales para las muestras proteínicas de tepejilote se obtuvieron a una resolución de 4  $\text{cm}^{-1}$  a una potencia láser nominal de 500 mW. Para cada espectro, se acumularon 20 exploraciones para garantizar una relación señal/ruido aceptable. Todos los espectros de Raman se recogieron a temperatura ambiente.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **Espectroscopía de Infrarrojo de transformada de Fourier**

En la Figura 1 se observan los espectros FT-IR de los aislados proteínicos de tepejilote fresco y sometido a presión a vapor, en los cuales se observa que el tratamiento hidrotérmico de presión de vapor, genera la interacción de las proteínas del tepejilote, con los remanentes de lípidos, lo cual se evidencia con el empalme de las señales a 3400  $\text{cm}^{-1}$  y 2930  $\text{cm}^{-1}$ , observándose que el proceso de desengrasado no tiene un efecto significativo sobre la conformación estructural del aislado proteínico. Por otra parte, las señales de los grupos característicos de la Amidas I (1650  $\text{cm}^{-1}$ ) amidas II (1550  $\text{cm}^{-1}$ ) y Amidas III (1300  $\text{cm}^{-1}$ ) sufren modificaciones por efecto del tratamiento hidrotérmico. La región comprendida entre 2,100  $\text{cm}^{-1}$  y 2,300  $\text{cm}^{-1}$  se asocia con la presencia de amidas, debido a la concentración de proteínas, encontrando bandas marcadas en las muestras frescas y bandas más suaves en las muestras tratadas térmicamente (González-Cruz *et al.*, 2018).

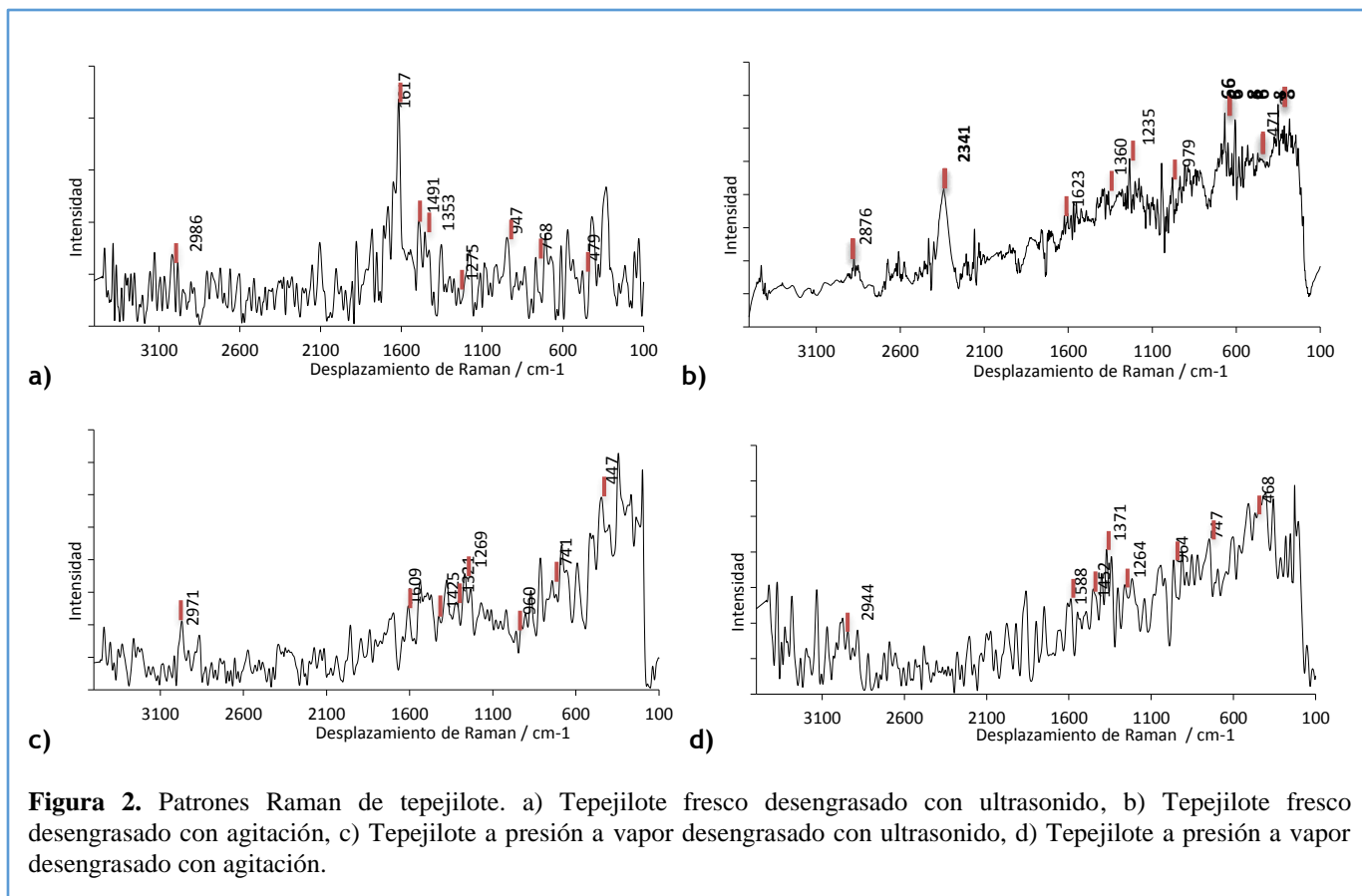


**Figura 1.** Patrones FT-IR de tepejilote. a) Tepejilote fresco desengrasado con ultrasonido, b) Tepejilote fresco desengrasado con agitación, c) Tepejilote a presión a vapor desengrasado con ultrasonido, d) Tepejilote a presión a vapor desengrasado con agitación.

**Espectroscopía Raman**

En la Figura 2 se muestran los espectros Raman de las muestras de tepejilote en fresco y tratadas térmicamente a presión a vapor, se puede observar que en las muestras sometidas al tratamiento térmico, se incrementa la intensidad de la señal a 524, la cual está asociada a los enlaces disulfuro presentes en el aislado proteínico, lo que permite establecer que posiblemente el tratamiento térmico deja expuestos estos tipos de enlace, indicando un proceso de desnaturalización (Figura 2c and 2d).

Las regiones características principales que indican la presencia de proteínas y lípidos fueron observadas en todos los espectros, sin embargo, existen diferencias entre las regiones que involucran al grupo CONH y a las amidas principalmente en las que determina la cadena polipeptídica (Amida I) y las asociadas al estiramiento acoplado del enlace (C-N) y la vibración de estiramiento del enlace N-H.



**Figura 2.** Patrones Raman de tepejilote. a) Tepejilote fresco desengrasado con ultrasonido, b) Tepejilote fresco desengrasado con agitación, c) Tepejilote a presión a vapor desengrasado con ultrasonido, d) Tepejilote a presión a vapor desengrasado con agitación.

## CONCLUSIONES

El tratamiento hidrotérmico genera modificaciones a nivel estructural y genera interacciones que entre lípidos y proteínas que pueden ser identificados por la espectroscopía infrarroja y complementados por la identificación específica de la espectroscopía Raman.

## BIBLIOGRAFÍA

- Castillo-Mont, J.J., Hodel, D.R., Stauffer, F.W. y Tregear, J.W. 2017. The Pacaya Palm, *Chamaedorea tepejilote*: Observations of its Cultivated and Wild Forms in Guatemala. *PALMS*, 61(3), 109-118.
- Centurión-Hidalgo, D., Alor-Chávez, M.J., Espinosa-Moreno, J., Gómez-García, E., Solano, M.L. y Poot-Matu, J.E. 2009. Contenido nutricional de inflorescencias de palmas en la Sierra del Estado de Tabasco. *Universidad y ciencia*, 25(3), 193-199.
- Magaña-Alejandro, M.A. y González-Hernández, A. 2017. Estudio taxonómico de la familia Arecaceae en el municipio de Macuspana, Tabasco, México. *Kuxulkab'*, 23(47), 05-15.
- PALMweb. 2018. Palmweb: Palms of the World Online. *Chamaedorea tepejilote* Liebm.
- Riquett-Robles, D. y Solórzano-Carranza, E. 2013. Actividad hipoglucemiante de *Chamaedorea tepejilote* Liebm. (pacaya). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. 18(1), 27-33.