

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO



CARACTERIZACION FISICOQUIMICA Y
VALORACION NUTRICIONAL Y FUNCIONAL DE UN
AISLADO PROTEICO OBTENIDO DE LA SEMILLA
DE EBANO - *Pithecellobium flexicorne* (Benth.) -

T E S I S

PRESENTADA POR:

M.C. MARIO RAFAEL GONZALEZ QUIJADA

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER
EL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS
CON ESPECIALIDAD EN ALIMENTOS

MONTERREY, N. L.

NOVIEMBRE DE 1999

M, R, G, Q,

CARACTERIZACION FISICOQUIMICA Y VALORACION NUTRICIONAL
Y FUNCIONAL DE UN AISLADO PROTEICO OBTENIDO DE LA SEMILLA
DE EBANO - *Pithecolobium flexicaule* (Benth.) -

TD
SB317
.E2
G65
1999
c.1

1999



1080124462

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

ESCUELA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO



CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA Y
EVALUACIÓN NUTRICIONAL Y FUNCIONAL DE UN
ALIMENTO PROTEICO OBTENIDO DE LA SEMILLA
DE EBANO - *Pithecellobium flexicouale* (Benih.) -

T E S I S

PRESENTADA POR:

M.C. MARIO RAFAEL GONZALEZ QUIJADA

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER
EL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS
CON ESPECIALIDAD EN ALIMENTOS

MONTERREY, N. L.

NOVIEMBRE DE 1999



TD

SB317

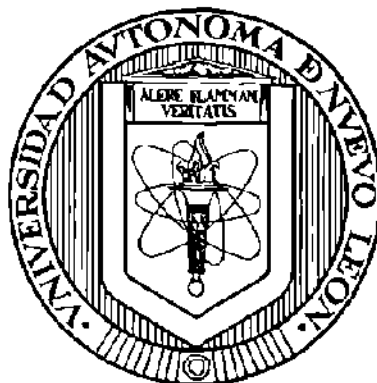
•E2

GLS

1999



UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO



CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA Y VALORACIÓN
NUTRICIONAL Y FUNCIONAL DE UN AISLADO
PROTEICO OBTENIDO DE LA SEMILLA DE ÉBANO
- *Pithecellobium flexicaule* (Benth.) -.

T E S I S

PRESENTADA POR

M.C. MARIO RAFAEL GONZÁLEZ QUIJADA

COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OBTENER EL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS CON
ESPECIALIDAD EN ALIMENTOS

Monterrey, N.L.

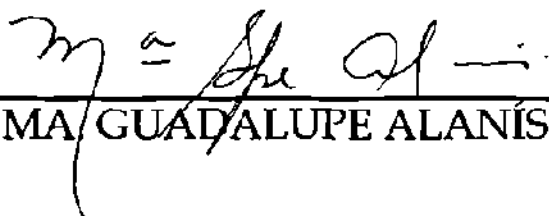
Noviembre de 1999

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO

CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA Y VALORACIÓN
NUTRICIONAL Y FUNCIONAL DE UN AISLADO
PROTEICO OBTENIDO DE LA SEMILLA DE ÉBANO
- *Pithecellobium flexicaule* (Benth.) -.

DIRECTOR DE TESIS



DRA. MA. GUADALUPE ALANÍS GUZMÁN

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO

CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA Y VALORACIÓN
NUTRICIONAL Y FUNCIONAL DE UN AISLADO
PROTEICO OBTENIDO DE LA SEMILLA DE ÉBANO
- *Pithecellobium flexicaule* (Benth.) -.

T E S I S


PRESENTADA POR

M.C. MARIO RAFAEL GONZÁLEZ QUIJADA

COMISIÓN DE TESIS


DRA. MA. GUADALUPE ALANÍS GUZMÁN
DIRECTOR


DRA. NORMA L. HEREDIA ROJAS
SECRETARIO


DR. BALTAZAR CUEVAS HERNÁNDEZ
VOCAL

Monterrey, N.L.

Noviembre de 1999

DEDICATORIA

Al Maestro José Nelson

A la memoria de mis Padres José y Carmen

A mi Esposa Cruz María

A mis Hijos Mario y Lucy

A mi Hermano T. Antonio

A mis Amistades de la Colonia
Corral de Piedra

RECONOCIMIENTO

Hago constar mi reconocimiento a la:

UNIVERSIDAD DE ORIENTE

Institución Académica de Venezuela, a la cual estoy adscrito como docente, quien me brindó el apoyo económico durante la realización de este Doctorado.

Igualmente expreso mi reconocimiento a las siguientes dependencias de la Universidad Autónoma de Nuevo León, México; cuyas instalaciones y equipos fueron utilizados en ésta investigación:

Laboratorio de Ciencia de los Alimentos

Laboratorio de Microbiología del Suelo

Laboratorio de Bioquímica y Genética de Microorganismos

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Ma. Guadalupe Alanís Guzmán por la asesoría brindada en todas las etapas de esta investigación.

A los integrantes de la Comisión de Tesis: Dra. Norma Laura Heredia Rojas por el apoyo y orientaciones en relación al estudio electroforético realizado y al Dr. Baltazar Cuevas Hernández por sus sugerencias.

Al Dr. Roberto Mercado Hernández por su ayuda en el análisis estadístico de los resultados.

A la M.C. María Genoveva Alvarez Ojeda del Laboratorio de Bioquímica y Genética de Microorganismos de la U.A.N.L., por su valiosa ayuda en la electroforesis llevada a cabo en éste trabajo.

Al personal del Laboratorio de Microbiología del Suelo de la U.A.N.L.: Dra. Lilia Morales Ramos, Dra. Katiushka Arevalo Niño, M.C. Ma. Guadalupe Maldonado y M.C. Carlos Sandoval por su cooperación.

A los profesores de la Universidad de Oriente, Venezuela: Drs. José Jiménez Tiamo y Freddy Campos Alfonzo por la invaluable ayuda prestada en la gestión de recursos para el desarrollo de esta investigación.

Al personal del Laboratorio de Ciencia de los Alimentos de la U.A.N.L.: M.C. Carlos García, Q.B.P. Cristina González, Q.B.P. Adán García Villegas y Q.B.P. Aldo R. López Ruiz; quienes de una u otra forma colaboraron en este estudio.

A mi esposa Cruz María Hernández de González por su abnegable colaboración en el procesamiento de las muestras y en la obtención del aislado proteico investigado.

Al M.C. David Lazcano Villarreal y al Q.B.P. Claudio Guajardo Barbosa por su colaboración.

A la Biól. Mercedes González Maltos por su eficiente labor en la transcripción del manuscrito.

A todas aquellas personas, tanto dentro como fuera del ámbito universitario, que desinteresadamente brindaron su colaboración para hacer posible esta investigación.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
DEDICATORIA.....	<i>iii</i>
RECONOCIMIENTOS.....	<i>iv</i>
AGRADECIMIENTOS.....	<i>v</i>
ÍNDICE DE TABLAS.....	<i>x</i>
ÍNDICE DE FIGURAS.....	<i>xiii</i>
ÍNDICE DE APÉNDICES.....	<i>xv</i>
RESUMEN.....	<i>xx</i>
ABSTRACT.....	<i>xxi</i>
INTRODUCCIÓN.....	1
REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
1.- Caracterización Físicoquímica de las Proteínas de Leguminosas.....	3
1.1.- Perfil de Proteínas por Solubilidad y Puntos Isoeléctricos.....	3
1.2.- Cuantificación Electroforética de Pesos Moleculares de las Proteínas.....	6
2.- Aislados Proteicos de Leguminosas.....	8
3.- Propiedades Funcionales de las Proteínas de Leguminosas.....	11
4.- Valoración Nutricional de la Semilla de Ébano.....	28
HIPÓTESIS.....	31
OBJETIVOS.....	31
MATERIALES Y MÉTODOS.....	33
1.- Fuente y Preparación de las Muestras.....	33
2.- Procedimientos Analíticos.....	34

2.1.- Caracterización de las Proteínas de la Semilla de Ébano.....	35
2.1.1.- Composición Proximal.....	35
2.1.2.- Perfil de Proteínas por Solubilidad.....	35
2.1.3.- Puntos Isoeléctricos de las Fracciones Proteicas Solubilizadas.....	38
2.1.4.- Pesos Moleculares por Electroforesis en Gel de Poliacrilamida (SDS-PAGE).....	39
2.2.- Determinación de las Condiciones Óptimas de pH y Temperatura para la Extracción de Proteínas.....	40
2.3.- Obtención del Aislado Proteico.....	43
2.4.- Valoración Nutricional del Aislado Proteico.....	45
2.4.1.- Composición Proximal.....	45
2.4.2.- Perfil de Aminoácidos.....	45
2.4.3.- Compuestos Antinutricionales.....	47
2.4.3.1.- Taninos.....	48
2.4.3.2.- Fitatos.....	49
2.4.3.3.- Inhibidores de Tripsina.....	50
2.4.4.- Digestibilidad <i>in vivo</i>	51
2.4.4.1.- Formulación de las Dietas.....	51
2.4.4.2.- Condiciones del Bioensayo.....	52
2.4.5.- Evaluación de la Calidad de la Proteína.....	53
2.5.- Valoración Funcional del Aislado Proteico.....	53
2.5.1.- Solubilidad.....	53
2.5.2.- Absorción de Agua.....	54
2.5.3.- Absorción de Grasa.....	55
2.5.4.- Capacidad Emulsificante.....	55
2.5.5.- Capacidad Espumante.....	56
2.5.6.- Capacidad de Gelificación.....	57
3.- Análisis Estadístico.....	58

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	59
1.- Caracterización de las Proteínas de la Semilla de Ébano.....	59
1.1.- Composición Proximal.....	59
1.2.- Perfil de Proteínas por Solubilidad.....	60
1.3.- Puntos Isoeléctricos de las Fracciones Proteicas Solubilizadas.....	67
1.4.- Cuantificación de Pesos Moleculares por Electroforesis en Gel de Poliacrilamida (SDS-PAGE).....	74
2.- Condiciones Óptimas de pH y Temperatura para la Extracción de Proteínas de la Semilla de Ébano.....	78
3.- Composición y Rendimiento del Aislado Proteico Obtenido.....	84
4.- Valoración Nutricional del Aislado Proteico.....	88
4.1.- Compuestos Antinutricionales.....	88
4.2.- Composición Aminoácida.....	94
4.3.- Digestibilidad Verdadera de la Proteína.....	100
4.4.- Puntaje Aminoacídico y Calidad de la Proteína.....	102
5.- Valoración Funcional del Aislado Proteico.....	109
5.1.- Capacidades de Absorción de Agua y Grasa.....	109
5.2.- Solubilidad del Aislado.....	114
5.3.- Capacidad Emulsificante.....	117
5.4.- Capacidad Espumante.....	122
5.5.- Capacidad de Gelificación.....	124
CONCLUSIONES.....	126
RECOMENDACIONES.....	129
LITERATURA CITADA.....	130
APÉNDICE A.	140
APÉNDICE B.	162

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1.- Composición proximal de la harina obtenida de los cotiledones de la semilla madura de ébano – <i>Pithecellobium flexicaule</i> (Benth.) – sin desgrasar y después de desgrasada con n-hexano.....	60
Tabla 2.- Fracciones proteicas en la harina desgrasada de la semilla madura de ébano – <i>Pithecellobium flexicaule</i> (Benth.) – expresadas como % en relación al contenido total de proteínas de la semilla.....	63
Tabla 3.- Fracciones proteicas en la semilla madura de ébano <i>Pithecellobium flexicaule</i> (Benth.) – expresadas como % en relación a la composición de la semilla desgrasada.....	65
Tabla 4.- Valores del pH isoelectrico de las principales fracciones proteicas de la semilla madura de ébano – <i>Pithecellobium flexicaule</i> (Benth.) –, obtenidos experimentalmente y mediante cálculo diferencial de puntos máximos de precipitación proteínica.....	68
Tabla 5., Pesos moleculares aproximados (kDa), determinados por electroforesis (SDS-PAGE), de las subunidades proteicas detectadas en las principales fracciones proteínicas de la semilla madura de ébano – <i>Pithecellobium flexicaule</i> (Benth.) -.....	76
Tabla 6.- Cantidad de proteína extraída (%) de la semilla madura de ébano – <i>Pithecellobium flexicaule</i> (Benth.) – a diferentes valores de pH y temperatura.....	79
Tabla 7.- Composición proximal del aislado proteico obtenido de la semilla madura de ébano – <i>Pithecellobium flexicaule</i> (Benth.) -.....	85
Tabla 8.- Contenido de taninos, fitatos y actividad de inhibidores de tripsina en el aislado proteico obtenido de la semilla madura de ébano – <i>Pithecellobium flexicaule</i> (Benth.) -.....	89

Tabla 9.- Contenido de taninos, fitatos y actividad de inhibidores de tripsina del aislado proteico de la semilla madura de ébano <i>Pithecellobium flexicaule</i> (Benth.) – comparados con los de la harina sin desgrasar de la misma semilla.....	91
Tabla 10.- Composición aminoácida del aislado proteico obtenido de la semilla madura de ébano – <i>Pithecellobium flexicaule</i> (Benth.) -.....	95
Tabla 11.- Composición aminoácida del aislado proteico de la semilla madura de ébano – <i>Pithecellobium flexicaule</i> (Benth.) – comparada con la de los cotiledones de la misma semilla.....	97
Tabla 12.- Contenido de aminoácidos esenciales del aislado proteico de la semilla de ébano – <i>Pithecellobium flexicaule</i> (Benth.) – comparado con los de aislados proteicos de otras leguminosas.....	99
Tabla 13.- Digestibilidad verdadera promedio de la proteína del aislado obtenido de la semilla madura de ébano – <i>Pithecellobium flexicaule</i> (Benth.) – comparada con la de la proteína de la semilla completa de la misma leguminosa.....	100
Tabla 14.- Digestibilidad de la proteína del aislado de la semilla de ébano – <i>Pithecellobium flexicaule</i> (Benth.) – en relación con la de materiales proteicos de otras leguminosas.....	103
Tabla 15.- Aminoácidos esenciales en el aislado proteico y en los cotiledones de la semilla madura de ébano – <i>Pithecellobium flexicaule</i> (Benth.) -, y la razón entre cada uno de ellos y los del patrón de referencia de requerimientos de aminoácidos para niños de edad pre-escolar de la FAO/OMS/UNU de 1991.....	104
Tabla 16.- Puntaje aminoacídico, digestibilidad verdadera, y puntaje aminoacídico corregido por la digestibilidad de la proteína del aislado y de la semilla madura cruda de ébano – <i>Pithecellobium flexicaule</i> (Benth.) -.....	106
Tabla 17.- Puntaje aminoacídico corregido, contenido proteico y digestibilidad verdadera de la proteína del aislado de la semilla de ébano y de algunos productos alimenticios de leguminosas y cereales.....	108

Tabla 18.- Propiedades funcionales del aislado proteico obtenido de la semilla madura de ébano – <i>Pithecellobium flexicaule</i> (Benth.) -.....	110
Tabla 19.- Propiedades funcionales del aislado proteico de la semilla de ébano – <i>Pithecellobium flexicaule</i> (Benth.) – y las de aislados de otras leguminosas.....	111
Tabla 20.- Solubilidad del aislado proteico de la semilla madura de ébano – <i>Pithecellobium flexicaule</i> (Benth.) – a diferentes valores de pH.....	115
Tabla 21.- Efecto de la concentración de sal (NaCl) sobre la capacidad emulsificante del aislado proteico de la semilla de ébano – <i>Pithecellobium flexicaule</i> (Benth.) -.....	120

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1.- Esquema del procedimiento usado para fraccionar por solubilidad a las proteínas de la semilla madura de ébano – <i>Pithecellobium flexicaule</i> (Benth.) -.....	37
Figura 2.- Diagrama del procedimiento de extracción de proteínas de la harina desgrasada de la semilla madura de ébano – <i>Pithecellobium flexicaule</i> (Benth.) -.....	42
Figura 3.- Diagrama del procedimiento de obtención del aislado proteico de la semilla de ébano.....	44
Figura 4.- Composición proximal (%) de la harina obtenida de los cotiledones de la semilla madura de ébano – <i>Pithecellobium flexicaule</i> (Benth.) – sin desgrasar y después de desgrasada con n-hexano.....	61
Figura 5.- Fracciones proteicas (%) en la harina desgrasada de la semilla madura de ébano – <i>Pithecellobium flexicaule</i> (Benth.) – en relación al contenido total de proteínas de la semilla.....	64
Figura 6.- Cantidad de proteína precipitada en función del pH en la determinación de los puntos isoeléctricos de las albúminas de la semilla de ébano – <i>Pithecellobium flexicaule</i> (Benth.) –.....	70
Figura 7.- Cantidad de proteína precipitada en función del pH en la determinación de los puntos isoeléctricos de las globulinas de la semilla de ébano – <i>Pithecellobium flexicaule</i> (Benth.) -.....	71
Figura 8.- Cantidad de la proteína precipitada en función del pH en la determinación de los puntos isoeléctricos de las glutelinas de la semilla de ébano – <i>Pithecellobium flexicaule</i> (Benth.) -.....	72

Figura 9.- Perfiles electroforéticos (SDS-PAGE) de las fracciones proteicas principales de la semilla madura de ébano.....	75
Figura 10.- Cantidad de proteína extraída de la semilla madura de ébano – <i>Pithecellobium flexicaule</i> (Benth.) – a diferentes valores de pH y temperatura.....	80
Figura 11.- Solubilidad del aislado proteico de la semilla de ébano – <i>Pithecellobium flexicaule</i> (Benth.) – a diferentes valores de pH.....	116
Figura 12.- Efecto de la concentración de NaCl sobre la capacidad emulsificante del aislado proteico de la semilla de ébano – <i>Pithecellobium flexicaule</i> (Benth.) -.....	121

ÍNDICE DE APÉNDICES

APÉNDICE A (TABLAS)

	Pág.
Tabla 1A.- Valores F, calculados mediante el análisis de varianza de una sola vía aplicado a la determinación de la composición proximal de la semilla madura de ébano <i>Pithecellobium flexicaule</i> (Benth.) -.....	141
Tabla 2A.- Valores F, calculados mediante el análisis de varianza de una vía, aplicado a la determinación de las fracciones proteicas en la harina desgrasada de la semilla madura de ébano – <i>Pithecellobium flexicaule</i> (Benth.) – por dos métodos analíticos (Espectrofotométrico y Kjeldahl).....	142
Tabla 3A.- Ecuaciones ajustadas de regresión no lineal y coeficientes de determinación (R^2) para la cantidad de proteína precipitada en función del pH en la determinación de los puntos isoeléctricos de las principales fracciones proteicas de la semilla madura de ébano – <i>Pithecellobium flexicaule</i> (Benth.) -.....	146
Tabla 4A.- Ecuaciones ajustadas de regresión no lineal y coeficientes de determinación (R^2) para la cantidad de proteína precipitada en función de valores de pH, comprendidos dentro del rango ácido de la escala de pH (0 – 7), en la determinación de los puntos isoeléctricos de las principales fracciones proteicas de la semilla madura de ébano.....	150

Tabla 5A.- Valores F calculados mediante el análisis de varianza de dos factores (pH y temperatura) aplicado a la extracción de proteínas de la harina desgrasada de la semilla madura de ébano – <i>Pithecellobium flexicaule</i> (Benth.) -.....	151
Tabla 6A.- Valores F calculados mediante el análisis de varianza del factor pH y resultados de la prueba de comparaciones múltiples de Tukey, aplicada a la extracción de proteínas de la harina desgrasada de la semilla madura de ébano – <i>Pithecellobium flexicaule</i> (Benth.) – a tres temperaturas diferentes.....	152
Tabla 7A.- Ecuaciones ajustadas de regresión no lineal y coeficientes de determinación (R^2) para la cantidad de proteína extraída de la harina desgrasada de la semilla madura de ébano – <i>Pithecellobium flexicaule</i> (Benth.) – en función del pH, a tres temperaturas diferentes.....	156
Tabla 8A.- Ecuación ajustada de regresión no lineal y coeficiente de determinación (R^2) para la solubilidad del aislado proteico de la semilla de ébano – <i>Pithecellobium flexicaule</i> (Benth.) – en función del pH.....	159
Tabla 9A.- Ecuación ajustada de regresión no lineal y coeficiente de determinación (R^2) para la capacidad emulsificante del aislado proteico de la semilla de ébano – <i>Pithecellobium flexicaule</i> (Benth.) – en función de la concentración molar de NaCl.....	159
Cálculo Diferencial de Puntos Isoeléctricos de las Fracciones Proteicas Principales de la Semilla de Ébano.....	160

APÉNDICE A (FIGURAS)

	Pág.
Figura 1A.- Curva de mejor ajuste para la regresión no lineal entre el pH y la cantidad de proteína precipitada en la determinación de los puntos isoeléctricos de las albúminas de la semilla de ébano – <i>Pithecellobium flexicaule</i> (Benth.) -.....	143
Figura 2A.- Curva de mejor ajuste para la regresión no lineal entre el pH y la cantidad de proteína precipitada en la determinación de los puntos isoeléctricos de las globulinas de la semilla de ébano – <i>Pithecellobium flexicaule</i> (Benth.) -.....	144
Figura 3A.- Curva de mejor ajuste para la regresión no lineal entre el pH y la cantidad de proteína precipitada en la determinación de los puntos isoeléctricos de las glutelinas de la semilla de ébano – <i>Pithecellobium flexicaule</i> (Benth.) -.....	145
Figura 4A.- Curva de mejor ajuste para la regresión no lineal entre el pH (rango ácido) y la cantidad de proteína precipitada en la determinación de los puntos isoeléctricos en albúminas de la semilla de ébano – <i>Pithecellobium flexicaule</i> (Benth.) -.....	147
Figura 5A.- Curva de mejor ajuste para la regresión no lineal entre el pH (rango ácido) y la cantidad de proteína precipitada en la determinación de los puntos isoeléctricos de las globulinas de la semilla de ébano – <i>Pithecellobium flexicaule</i> (Benth.) -.....	148

Figura 6A.- Curva de mejor ajuste para la regresión no lineal entre el pH (rango ácido) y la cantidad de proteína precipitada en la determinación de los puntos isoeléctricos en glutelinas de la semilla de ébano – <i>Pithecellobium flexicaule</i> (Benth.) -.....	149
Figura 7A.- Curva de mejor ajuste para la regresión no lineal entre el pH y la cantidad de proteína extraída de la semilla madura de ébano a 25°C.....	153
Figura 8A.- Curva de mejor ajuste para la regresión no lineal entre el pH y la cantidad de proteína extraída de la semilla madura de ébano a 30°C.....	154
Figura 9A.- Curva de mejor ajuste para la regresión no lineal entre el pH y la cantidad de proteína extraída de la semilla madura de ébano a 35°C.....	155
Figura 10A.- Curva de mejor ajuste de la regresión no lineal entre la solubilidad del aislado proteico de la semilla de ébano y el pH.....	157
Figura 11A.- Curva de mejor ajuste para la regresión no lineal entre la capacidad emulsificante del aislado proteico de la semilla de ébano y la concentración de NaCl.....	158

APÉNDICE B

	Pág.
Tabla 1B.- Cantidad de proteína precipitada en la fracción albumínica de la harina desgrasada de la semilla de ébano <i>Pithecellobium flexicaule</i> (Benth.) – a diferentes valores de pH.....	163
Tabla 2B.- Cantidad de proteína precipitada en la fracción globulínica de la harina desgrasada de la semilla de ébano <i>Pithecellobium flexicaule</i> (Benth.) – a diferentes valores de pH.....	164
Tabla 3B.- Cantidad de proteína precipitada en la fracción glutelínica de la harina desgrasada de la semilla de ébano <i>Pithecellobium flexicaule</i> (Benth.) – a diferentes valores de pH.....	165
Tabla 4B.- Patrón de referencia de requerimientos de aminoácidos esenciales.....	166
Algunas Ecuaciones Utilizadas en los Cálculos.....	167

RESUMEN

A fin de caracterizar química, nutricional y funcionalmente las proteínas de la semilla de ébano – *Pithecellobium flexicaule* (Benth.) – como fuente potencial de ingrediente para la industria alimenticia, se colectaron semillas maduras de esta leguminosa silvestre en tres localidades del estado de Nuevo León, México. Las semillas fueron convertidas en harina, la cual se desgrasó con n-hexano. Partiendo de ella se efectuó el fraccionamiento de las proteínas por solubilidad; se determinaron los puntos isoeléctricos de las principales fracciones proteicas encontradas en la semilla y los pesos moleculares de las subunidades proteicas de esas fracciones, mediante electroforesis (SDS-PAGE). Fueron determinadas las condiciones óptimas de pH y temperatura para la extracción de proteínas de la semilla, y se obtuvo un aislado proteico de la misma por precipitación isoeléctrica de la proteína. Este aislado fue evaluado nutricional y funcionalmente. Los resultados revelan que la fracción proteica más abundante en la semilla son las albúminas (54.6%), seguido de las globulinas (32.2%). Las glutelinas (5.7%) y las prolaminas (1.3%) se encontraron en bajas cantidades. Los puntos isoeléctricos de las albúminas, globulinas y glutelinas, tanto experimentales como los obtenidos por cálculo diferencial a partir del análisis de regresión no lineal, están dentro del rango de pH 2.3-2.7. Las proteínas de más alto peso molecular fueron encontradas en las albúminas (92 y 100 kDa), en las globulinas se detectaron 4 subunidades proteicas con masas moleculares entre 28.4 y 57.3 kDa. Se encontraron diferencias altamente significativas ($P < 0.01$) en la cantidad de proteína extraída a las diferentes temperaturas (25, 30 y 35°C) y pH ensayados (2-12). Las condiciones bajo las cuales la cantidad de proteína extraída fue máxima (92%) son pH 11 y 25°C. La proteína fue precipitada isoeléctricamente a pH 2.6, obteniéndose un aislado con un contenido proteínico de 89.98%, en base seca, y un rendimiento del 45.6% (en relación al total de proteínas). El aislado proteico obtenido tiene 53% menos taninos y 70% menos fitatos y actividad de inhibidores de tripsina que la semilla madura. La digestibilidad verdadera de la proteína del aislado, determinada *in vivo* mediante ensayo con ratas, es del 85.36%. Comparado con aislados proteicos de otras leguminosas, el aislado obtenido es alto en contenidos de lisina, leucina, treonina, fenilalanina y tirosina; pero bajo en isoleucina, metionina y cistina; siendo los aminoácidos azufrados el primer limitante. Su puntaje aminoacídico corregido por digestibilidad es de 0.44, similar al de la semilla madura. El aislado proteico investigado tiene altas capacidades de emulsificación y gelificación, mayores que las de aislados de soya y de otras leguminosas tradicionalmente comestibles, con capacidades de absorción de agua y grasa equiparables a las de ellas, pero con capacidad espumante más baja.

ABSTRACT

With the purpose of characterize the chemical, nutritional and functional properties of the *Pithecellobium flexicaule* (Benth.) ebony seeds proteins, as potential ingredient for the food industry, mature seeds of this wild legume were collected, in three localities in the state of Nuevo Leon, Mexico. Seeds were converted into flour, which were then degreased with n-hexane. From this, the proteins were then fractionated by solubility, isoelectric points were determined from the principals proteins fractions found in the seeds; the molecular weight of these fraction sub-unites were analyzed by means of electrophoresis (SDS-PAGE). Protein extraction it's optima pH and temperature conditions was determined; a isolate protein was obtained by a isoelectric precipitation from this extraction. This isolate protein was nutritional and functional evaluated. Results reveled that the most abundant protein fraction of the seeds were albumins (54.6%), followed by globulins (32.2%). Glutelins (5.7%) and prolamins (1.3%) that were found in low concentrations. The isoelectric points of the albumins, globulins and glutelins, experimentally and those obtain by the no lineal regression analysis, were between 2.3-2.7 pH range. The proteins with higher molecular weight were the albumins (92 and 100 kDa), in the globulins 4 sub-unites were detected with molecular weight between 28.4 and 57.3 kDa. Significant differences were found ($P < 0.01$) in the protein amount extracted at differents temperatures (25, 30, and 35°C) and pH (2-12) tested. Conditions were maximan quantity of protein (92%) was extracted were at 25°C y pH 11. The protein was isoelectrally precipitated at pH 2.6, obtaining a isolate with 89.98% protein in dry base and yielding 45.6%, with relation to the total protein. This isolate protein contained 53% less of tannins and 70% less phytates and trypsin inhibitors activities than that mature seeds. The true digestibility of this isolate protein, determined *in vivo* with rats trial, was 85.36%. Compared with other isolates proteins of differents leguminous, this protein has highs contents of lysine, leucine, threonine, phenylalanine and tyrosine; but is low in isoleucine, methionine and cystine; were sulfured amino acids are the first limitation. The aminoacidic score corrected for the digestibility was 0.44, similar to that of the mature seeds. This isolate protein possess highs emulsification and gellification capacities; higher than those isolates from soy beans and other traditional leguminous; also with the water and oil absorptions capacities equivalent to them; but with a low foam production.