

Aprovechamiento de las semillas de maracuya (*Passiflora Edulis* F)

Aspectos preliminares de su estudio funcional

JOSÉ J. MARTÍNEZ¹
ROCIO ZAMBRANO²

¹ Grupo de Catálisis LIPTC, Escuela de Ciencias Químicas, Facultad de Ciencias, Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia.

² Escuela de Ciencias Químicas, Facultad de Ciencias, Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. Avenida Norte-Turija.
jose.martinez@uptc.edu.co

Resumen

Las propiedades funcionales de la harina y aislados proteicos de semillas de maracuyá *Passiflora edulis f* fueron evaluados para determinar sus posibles aplicaciones. Los aislados proteicos fueron obtenidos de la harina desengrasada por solubilización alcalina a diferentes concentraciones de NaCl seguidas de precipitación isoeléctrica (pH=4), con un contenido proteico cercano 90 %. Se evaluaron las distintas propiedades funcionales como; capacidad de retención de agua (CRA), absorción de grasa (CRL), capacidad de hinchamiento (CH), densidad aparente (D.A), actividad emulsificantes (IAE) en el rango de pH 2-10 y capacidad espumante (CE). El aislado obtenido con 0,25 M de NaCl contribuye a exponer más grupos hidrófilos en la superficie, lo que explica la alta CRA y baja CRL como sus propiedades de emulsión. Una alta capacidad espumante fue observada para los aislados lo que favorece su aplicación en productos alimenticios.

Palabras claves: *Passiflora edulis f*, propiedades funcionales, aislados proteicos.
Key words: *Passiflora edulis f*, functional properties, protein isolates.

Abstract

The functional properties of flours and protein isolates from the seeds of *Passiflora edulis f* were evaluated to determine their potential practical applications. The respective protein isolates were obtained from the flours by solubilization alkaline using different concentrations of NaCl follows of isoelectric precipitation, with protein content near at 90 %. For flours and protein isolates were evaluated distinct functional properties: water holding capacities, oil-holding capacity, apparent density, emulsifying activities at pH range 4-10 foaming capacity. The isolate obtained with 0,25 M of NaCl contributes to expose more groups hydrophilic on surface, which explains the high CRA and low CRL results as emulsion properties, also was observed a high foaming capacity for the isolates which favors the applications in food products.

1. Introducción

Las proteínas de origen vegetal son mucho más económicas que las de origen animal sin embargo en la actualidad sólo las proteínas de soja son ampliamente utilizadas en la fabricación de alimentos para personas. Las proteínas derivadas de leguminosas o de semillas de frutos pueden poseer una buena calidad nutricional y características estructurales similares a las de las proteínas de soja, pero no han sido estudiadas en detalle, por lo que se desconoce su función como ingrediente en diversos productos alimenticios. Es conocido que la habilidad de un ingrediente alimenticio para interactuar con otros e impartir propiedades deseables a un sistema de alimentos es conocido como funcionalidad. Así, el estudio de las propiedades funcionales de las proteínas presente en nuevas fuentes vegetales resulta atractivo para seleccionar cuales sirven como ingredientes en la industria alimentaria. (1-12)

Fracciones proteicas derivadas de semillas de procesadoras de frutas pueden poseer una buena calidad nutricional y características funcionales similares e incluso superiores a las de las proteínas de soja, pero no han sido estudiadas en detalle, por lo que se desconoce su función como ingrediente en diversos productos alimenticios. Las semillas de maracuyá (*Pasiflora edulis* f) pueden ser una de estas.

El maracuyá es una planta de origen tropical cuyos frutos (tipo bayas) presentan un sabor particular intenso y una alta acidez, muy apreciado en los países americanos y europeos

que lo demandan con gran interés, sus semillas constituyen cerca del 10 % del peso de la fruta y poseen un contenido proteico cercano al 25%, el incremento en el procesamiento de su pulpa en varias procesadoras de fruta locales y el inadecuado manejo de las semillas, genera la oportunidad de obtener aislados proteicos desde este tipo de fuente.

Los aislados proteicos vegetales pueden ser obtenidos por solubilización alcalina seguidos de precipitación a punto isoeléctrico (PI) (2, 6-12). Esta metodología es la más empleada en parte, por la facilidad de su implementación y por los altos rendimientos obtenidos de proteína, además permite la fácil separación de sustancias no-proteicas tales como azúcares, fibra, lípidos y otros componentes no deseables en el producto final, principalmente factores antinutricionales (FAN) (4), entre ellos fenoles (5) que reducen la solubilidad de proteínas y otorgan un color oscuro a los aislados. Así el proceso de solubilización deberá permitir el criterio de máximo rendimiento proteico y remoción de compuestos fenólicos.

Las propiedades funcionales son el resultado de las distintas interacciones con los demás componentes del alimento. Solubilidad, habilidad para capturar agua o grasa, *flavor*, así como las propiedades interfaciales resultan de estas interacciones¹. Teniendo en cuenta que cambios en el pH y concentración de sales, en especial NaCl, a menudo ocurre en el procesamiento de alimentos, el efecto de estos factores debe estudiarse en la solubilización alcalina (6,7), y por ende en la funcionalidad de la proteína extraída (7-12). Varias soluciones salinas han sido usadas en harinas de semillas;

soluciones de 0,25 a 0,50 % (w/v) de Na_2SO_3 y de NaCl son empleadas en la extracción de proteínas de semillas de algodón, girasol, guayaba (9), *carica papaya* (10), Na_2CO_3 y NaHCO_3 en semillas de girasol, lo mismo que, CaCl_2 , MgSO_4 , Na_2SO_4 para semillas de algodón (10). Wanasundara *et al*; (1996) han reportado el uso de hexametáfosfato de sodio en semillas de linaza (11). Eggers (12), con el uso de NaCl 0,1 M logro extraer cerca del 20 % de las proteínas de harinas desengrasadas provenientes de semillas de tomate, recientemente la metodología fue optimizada por Liadakis *et al* (6) logrando extraer aislados proteicos con contenidos de 93,4%, tales aislados presentaron distintos comportamientos funcionales siendo menos solubles pero más resistentes al calor y al Ca^{2+} , por lo que se puede deducir que dependiendo de la sal usada en la extracción se podrá elegir las características funcionales de los aislados proteicos.

Si bien a la fecha existe información limitada de las características fisicoquímicas y funcionales de aislados proteicos de sólo unas pocas semillas, no hay reportes en semillas de *Passiflora edulis f*, además se desconoce como los cambios de pH y presencia de NaCl , afectan la solubilización alcalina y por ende sus propiedades funcionales.

El objetivo del trabajo fue estudiar las principales propiedades fisicoquímicas y funcionales de las harina y de los aislados proteicos de las semillas de *Passiflora edulis f*, para conocer su posible uso como ingrediente alimentario, lo que puede asociarse con procesos de fácil implementación que permitan un aprovechamiento integral en el procesamiento de frutos.

2. Experimental

Las semillas se obtuvieron de una procesadora de frutas de la ciudad de Tunja, seguido de un procedimiento de lavado (limpieza de cualquier residuo adherido) y posterior secado hasta peso

constante, pulverizadas y la harina obtenida tamizada en malla 40. El desengrasado de la harina obtenida se realizó mediante sistema Soxhlet. El contenido de proteínas, % de Humedad, grasa total y fibra cruda, se evaluó siguiendo el protocolo de los métodos estándar de la Association of Official Analytical Chemists AOAC (1999) (13). El contenido total de carbohidratos fue calculado de la diferencia de los demás resultados.

Para la obtención de los aislados proteicos la harina desengrasada se suspendió en una solución de NaOH a pH 12 y se sometió a agitación durante una hora, posterior centrifugación a 4000 rpm, al sobrenadante se le ajustó el pH a 4,0 (PI: punto isoelectrico) y el precipitado se sometió a centrifugación nuevamente, posterior liofilización; a este aislado se denominó AA. Para evaluar el efecto de la concentración salina sobre la obtención y comportamiento funcional, la harina fue suspendida en solución de NaCl en una proporción de 0,25 % manteniendo el pH de la extracción entre 8 y 12, y se siguió el procedimiento anteriormente descrito, al aislado obtenido se denominaron AN.

La solubilidad de nitrógeno para determinar P.I, se determinó según el método propuesto por Beuchat *et al*., sobre un rango de pH de 2,0 a 12 cuantificando proteínas según el método de Lowry (14). Para evaluar el comportamiento funcional de la harina y de los aislados se determinó la capacidad de retención de agua (CRA), absorción de grasa (CRL) y concentración mínima de gelación (CMG) y densidad aparente (D.A) por el método de Sathe, *et al* (15-16), actividad emulsificante (IAE) según Pearce and Kinsella (17), con las modificaciones propuestas por Chanva *et al*; (2001) (18), la estabilidad de la emulsión (EE) según la metodología propuesta por Tang, *et al*; (2006) (19). La capacidad espumante y estabilidad de la espuma por medio de las técnicas propuestas por Chau *et al*; (1997) (20). Los valores de todas las pruebas corresponden al promedio de

triplicados y se analizó medidas de tendencia central y de dispersión.

3. Resultados y discusión

La figura 1 muestra la variación de la solubilidad de nitrógeno a diferentes pHs de la harina desengrasada (HS), se observa una baja solubilidad de nitrógeno (<30%) en un amplio rango de pH's menores a 8, con un mínimo a pH 4 donde se puede suponer se encuentra cercano a su punto isoeléctrico (pI), alcanzando un máximo de solubilidad a pH 11. La alta solubilidad en condiciones alcalinas, se debe a la máxima carga neta que logran las proteínas, en contraste con la baja solubilidad a pH ácidos, lo cual podría ser una limitante para ser empleada como aditivo alimentario sin un tratamiento previo.

La composición porcentual de proteína para la harina y de los aislados se muestra en la tabla 1, a medida que la concentración de NaCl se incrementa se observa un ligero decrecimiento en el porcentaje de proteína extraído, hecho que puede atribuirse a la diferencia de solubilidad de las proteínas en presencia de NaCl. Contenidos de polifenoles en HS y aislados fueron menores al 0,1 %, en este sentido bajos niveles de polifenoles son deseables desde un punto de vista nutricional y funcional (21).

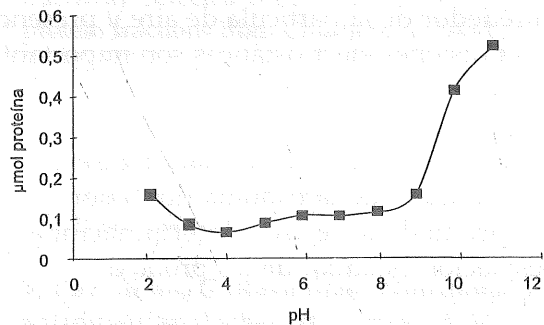


Figura 1. Solubilidad de nitrógeno de la harina de las semillas de *pasiflora edulis f*

Tabla 1. % de proteína según Kjeldahl y propiedades funcionales de la harina y aislados obtenidos. (los valores son los promedios de tres determinaciones \pm desviación estándar de los promedios).

	HD	AA	AN0,25
% Proteína	27,7	95,6	93,5
Polifenoles	>0,1	> 0,1	> 0,1
CRA	1,40 \pm 0,7	1,55	2,40
CRL	2,02 \pm 1,2	1,50	1,7
DA	0,627 \pm 0,06	0,430	0,353
CH	160 \pm 0,5	180	200
CMG	6	12	11

La capacidad de retención de agua (CRA) para la harina desengrasada y para el aislado proteico fue baja y similar (tabla 1), a diferencia del aislado obtenido en presencia de NaCl, este resultado se atribuye a la mayor cantidad de grupos hidrófilos de las proteínas presentes en la superficie del aislado que en la harina desengrasada (19-23), lo cual significa que la presencia de NaCl modifica la conformación estructural de muchas proteínas y por tanto sus propiedades funcionales resultan ser distintas. Aunque los valores de CRA son más bajos que los aislados de soya (3,6 ml/g) (2), son más altos que aislados de semillas como la guayaba (1,3 ml/g) (25), y la papaya (2,24 ml/g) (15). En la misma tabla se observa una baja capacidad de absorción de grasa (CRL) del aislado proteico en ausencia de NaCl (AA), lo que confirma lo expuesto en cuanto a los cambios conformacionales de las proteínas extraídas. Una relación inversa entre la densidad aparente (DA) y la CRA fue observada tanto en la harina como para los distintos aislados estudiados, en contraste a la capacidad de hichamiento que muestra una relación directa con la CRA. La concentración mínima de gelación (CMG) fue similar para los aislados y más baja para la harina desengrasada, en este sentido, la gelación no solo es una función de la cantidad de proteína sino del tipo de proteína extraída como de los demás componentes no proteicos extraídos. (8,16)

La actividad emulsificante de la harina desengrasada y los aislados como una función del pH y concentración de NaCl, se muestra en la figura 2a. La actividad emulsificante medida como absorbancia de la turbidez de la muestra (10), es mayor en la harina desengrasada y menor y similar para los aislados a distintas concentraciones de NaCl. A pHs alcalinos el comportamiento emulsificante incrementa, lo cual revela que la capacidad de emulsión de los aislados es dependiente del pH, esto se explica porque el tamaño de la gota

emulsificada disminuye tanto como se acerca al punto isoeléctrico de la proteína; así es claro que la capacidad de emulsión de una proteína depende del balance hidrofílico-lipofílico el cual es afectado por el pH(8). Para los resultados de estabilidad de la emulsión (ES) (figura 2b), se observa un similar comportamiento en las muestras estudiadas, curvas tipo campana se explican debido al incremento de la velocidad de la interacción de las gotas emulsificadas, dado que la carga neta de la proteína es modificada sobre condiciones extremas de pH.

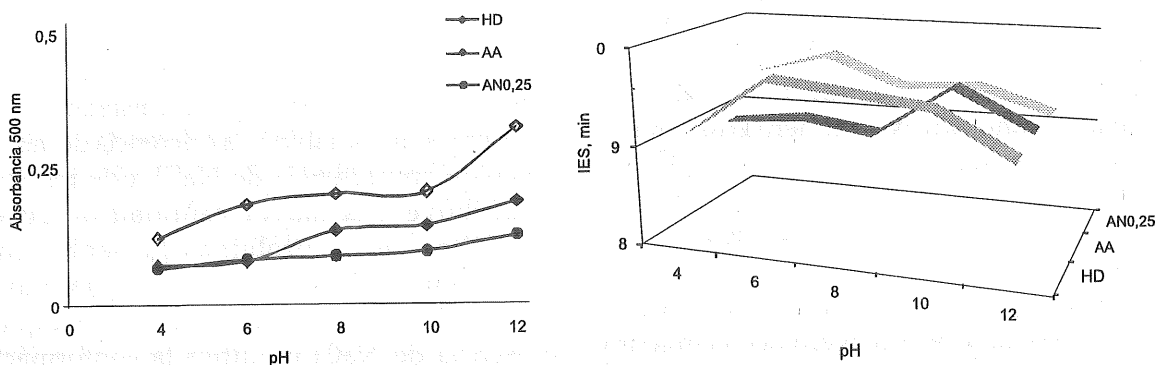


Figura 2. a) Capacidad emulsificante y b) Estabilidad de la emulsión de la harina desengrasada y los aislados proteicos obtenidos.

Los resultados de capacidad y estabilidad espumante de la harina y aislados de *Pasiflora edulis f*, se muestran en la tabla 3, aunque la harina no desarrolló espuma, posiblemente debido al contenido remanente de grasa que actúa como un inhibidor de la formación de espuma (15), en los aislados se evidencio una alta capacidad espumante, con valores similares a los aislados de soya comerciales, esto se explica al posible tipo de proteínas extraídas.

La estabilidad de la espuma mostró una estabilidad a los 90 min de cerca del 50% a pH 7; Chavan *et al*; (2001) (18) asocian el incremento de la solubilidad de los aislados y al rápido desplegamiento en la interfase aire-agua, limitada a la cohesión intermolecular y

flexibilidad de las moléculas surfactantes de la proteína, sugiriendo que en espumas alimentarias, la habilidad para mantener una película de agua en la superficie de la proteína y alrededor de la partícula de aire y presencia de repulsiones electrostáticas son importantes para su estabilidad (16).

Tabla 3. Capacidad de formación de espuma y estabilidad de la espuma (los valores son los promedios de tres determinaciones \pm desviación estándar de los promedios).

%	HD	AA	AN0,25
CE	-	98,8	97,8
EE a 90 min	-	52	51

4. Conclusiones

Se analizaron las distintas propiedades funcionales de la harina desengrasada y de los aislados proteicos obtenidos a través de procesos de solubilización alcalina seguidos de precipitación isoeléctrica, se estudio el efecto de la presencia de NaCl en las propiedades funcionales, se evidencia que cambios conformacionales ocurren las proteínas extraídas lo que determina su comportamiento funcional. Los resultados parciales indican que es posible usar los aislados proteicos en la

formulación de un amplio rango de nuevos productos, en los que se requiera una alta capacidad de retención de agua e hinchamiento, además sus demás propiedades funcionales observadas hace que se puedan considerar como una alternativa de reemplazo de las tradicionales proteínas animales.

5. Agradecimientos

Los autores agradecen a la Facultad de Ciencias por las facilidades otorgadas para la realización de este trabajo.

Referencias

1. E.L. Szczapa, P. Konieczny, M.N. Ka³ucka, S.Walczak, I. Kossowska, M. Malinowska, Some functional properties of lupin proteins modified by lactic fermentation and extrusion, *Food Chemistry* 96 (2006) 290-296
2. G.N. Liadakis, C. Tzia, V. Oreopouli, CD. Thomopoulos, Protein isolation from tomato seed meal, extraction optimization. *J. Food. Sci.* 60 (1995) 477-482.
3. A.A. Bushway, A.M. Wilson, L. Houston, R. Bushway Selected properties of the lipid and protein fractions from Chía seed. *J. Food Sci.* 49 (1984) 555-7.
4. Moure, M. Rua, J. Sineiro, H. Dominguez, Aqueous Extraction and Membrane Isolation of Protein from Defatted Gevuina avellana, *J. Food Sci.* 67 (2002) 688-696
5. V. Ravindran, G. Ravindran, Nutritional and antinutritional characteristics of Mucuna (*Mucuna utilis*) bean seeds. *J. Sci. Food & Agric.* 46 (1988) 71-79.
6. G.N. Liadakis, C. Tzia, V. Oreopoulou, C D. Thomopoulos, Isolation of tomato seed meal proteins with salt solutions. *J. Food Sci.* 63 (1998) 450-458
7. M.A. Mwasaru, K. Muhammad, J. Bakar, YB. Che Man, Influence of altered solvent environment on the functionality of pigeonpea (*Cajanus cajan*.) and cowpea (*Vigna unguiculata*) protein isolates: functional properties. *Food Chemistry.* 71 (2000)157-165.
8. A.B. Nicanor, A. Ortiz-Moreno, A. L. Martínez, G. Davila, Guava seed protein isolate: functional and nutritional characterization, *J. Food Biochemistry* 25 (2001) 77-90
9. E. K. Marfo, O. L. Oke, O. A. Afolabi, Some Studies on the Proteins of Carica papaya Seeds, *Food Chemistry* 22 (1986) 267-277
10. El-Tinay, H. Chandrasekhar, G. Ramanatham, Protein and gossypol extractability from cottonseed flour. *J. Sci. Food Agric.* 31 (1980) 38-42.
11. P.K.J.P.D. Wanasundara, F. Shahidi, F. Optimization of hexametaphosphate assisted

- extraction of flaxseed proteins using response surface methodology. *J. Food Sci.* 61 (1996) 604-607.
12. L.K. Eggers, Some biochemical and electron microscopic studies of the protein present in seeds recovered from tomato cannery waste. Ph.D. dissertation. The Ohio State Univ., Columbus, (1974) OH.
 13. AOAC (1999). Official methods of analysis, (16th ed.) Arlington: Association of official Analytical Chemists-Washington, D.C.
 14. O.H. Lowry, N.J. Rosebrough, A.L. Farr, R.J. Randall, Protein measurement with the Folin Phenol reagent. *J Biol Chem* 193 (1951) 265-275.
 15. S.K. Sathe, D.K. Salunkhe, Investigation on winged beans (*Psophocarpus tetragonolobus*) protein and antinutritional fractions. *J Food Sci.* 46 (1981)1389-1393.
 16. S.K. Sathe, S.S. Deshpande, D.K. Salunkhe, Functional properties of lupin seeds (*Lupinus mutabilis*) proteins and protein concentrates. *Journal of Food Science*, 47 (1985) 491-502.
 17. K.N. Pearce, J.E. Kinsella, Emulsifying properties of proteins: Evaluation of a turbidimetric technique. *J. Agric. Food Chem*, 26 (1978) 716-723.
 18. U.D. Chavan, D.B. McKenzie, F. Shahidi, Functional properties from beach pea (*Lathyrus maritimus* L.). *Food Chemistry*, 74 (2001) 177-187.
 19. C.H. Tang, Z. Ten, X.S. Wang, X.Q. Yang, Physicochemical and Functional Properties of Hemp (*Cannabis sativa* L.) Protein Isolate. *J. Agric. Food Chem.*, 54 (2006) 8945-8950
 20. C. Chau, K Cheung, Y. Wong, Functional properties of protein concentrates from the Chinese indigenous legume seeds. *J. Agric. Food. Chem.* 45 (1997) 2500-2503.
 21. H. Lquari, J. Vioque, J. Pedroche, F. Millan, *Lupinus angustifolius* protein isolates: chemical composition, functional properties and protein characterization. *Food Chemistry*. 76 (2002) 349-56.
 22. E. K. Marfo, O. L. Oke, O. A. Afolabi, Some Studies on the Proteins of *Carica papaya* Seeds, *Food Chemistry* 22 (1986) 267-277
 23. A.B. Nicanor, A. Ortiz-Moreno, A. L. Martínez, G. Davila, Guava seed protein isolate: functional and nutritional characterization, *J. Food Biochemistry* 25 (2001) 77-90