



# Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE QUIMICA

## "ASPECTOS BASICOS DE LA PROTEINA DE SOYA Y CONCENTRADOS PROTEINICOS DE SOYA"

### TRABAJO MONOGRAFICO DE ACTUALIZACION

Que para obtener el título de:

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P r e s e n t a :

PALOMA DE LA GARZA MONTAÑO

1985





Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## PROLOGO

En este trabajo monográfico se describen las características generales de las proteínas. Se mencionan las funciones que desempeñan, la producción de aminoácidos por hidrólisis de las mismas y su conformación. Posteriormente se revisan la estructura y propiedades de las proteínas de soya, mencionando los métodos empleados para conocer su estructura, propiedades físicas y la información proveniente de su desnaturalización. Se destacan así mismo, las propiedades funcionales de las proteínas y los concentrados y aislados proteínicos de la soya, haciendo énfasis en sus aplicaciones alimenticias. Se discute el valor nutricional de las proteínas de soya y sus factores antinutricionales, comparandolos contra otras fuentes de proteínas animales y/o vegetales. Se trata también lo relacionado a los concentrados y aislados comerciales y sus efectos en los alimentos para infantes, así como su uso en forma texturizada y como enriquecedor de otros alimentos. Finalmente se anota las conclusiones de este estudio, sobresaliendo principalmente la importancia de la soya como sustituto o suplemento alimenticio importante que mejora la calidad nutricional de la dieta en humanos a bajo costo y enfatizando que para que haya mayor aceptación, deben mejorarse aún sus características funcionales.

## INDICE

- Capítulo 1. INTRODUCCION: Características Generales de las Proteínas.
- Capítulo 2. Estructura y Propiedades de las Proteínas de Soya.
- Capítulo 3. Propiedades Funcionales de las Proteínas, y Concentrados y Aislados Proteínicos de Soya.
- Capítulo 4. Valor Nutricional de las Proteínas de Soya y Factores Antinutricionales de la Soya.
- Capítulo 5. Concentrados y Aislados Proteínicos Comerciales de Soya.
- Capítulo 6. Resumen y Conclusiones.
- Capítulo 7. Bibliografía.

## CAPITULO 1

### CARACTERISTICAS GENERALES DE LAS PROTEINAS

A continuación se enumeran las características distintivas de las proteínas de acuerdo con descripciones de Albert L. Lehninger (1972) principalmente, pero también según diversos textos sobre el tema (Sund 1966, Klotz, 1967):

Las proteínas se hallan constituidas por una o varias cadenas polipeptídicas, cada una de las cuales posee 100 o más restos aminoácidos, unidos entre sí covalentemente por enlaces peptídicos. Sus pesos moleculares varían desde alrededor de 6,000 hasta 1,000,000 o más. Todas las proteínas independientemente de la función que desempeñan o de la especie de origen, están constituidas por un conjunto básico de 20 aminoácidos, ordenados en diversas secuencias específicas. Las proteínas simples producen por hidrólisis solamente  $\alpha$ -aminoácidos, en tanto que las proteínas conjugadas contienen grupos prostéticos orgánicos o inorgánicos adicionales. Las proteínas se clasifican de acuerdo con su conformación en: fibrosas, que aparecen como cilindros o láminas en cadenas peptídicas paralelas y relativamente extendidas y son insolubles y globulares, que poseen cadenas polipeptídicas con plegamiento compacto, su forma es esférica o elipsoide y desempeñan funciones dinámicas.

La estructura primaria de una proteína es su secuencia aminoácida específica. La estructura secundaria es la constituida por la ordenación en zig-zag de las cadenas polipeptídicas a lo largo de un prolongado eje, en las proteínas fibrosas. La estructura terciaria se refiere al modo mediante el cual las cadenas polipeptídicas se pliegan para formar proteínas globulares. En las proteínas oligómeras la estructura cuaternaria es la manera con que las cadenas individuales polipeptídicas se agrupan conjuntamente. En el último término, la secuencia aminoácida es la que determina la conformación tridimensional de las moléculas de proteínas. Las proteínas se desnaturalizan o despliegan sin que se rompa el enlace peptídico de su cadena fundamental por acción de valores de pH o de temperatura extremos, o de otros agentes. La desnaturalización determina que las proteínas pierdan sus actividades biológicas; en ciertos casos, la desnaturalización es totalmente reversible.

Las proteínas desempeñan gran diversidad de funciones: actúan como catalizadores; como reserva de elementos nutritivos, como elementos estructurales en los sistemas contráctiles; como vehículo de transporte, y también como hormonas y como elementos de protección. La secuencia aminoácida de una proteína queda especificada durante su biosíntesis por una secuencia colineal de codones, que son triplete consecutivos de mononucleótidos en la molécula del DNA. Cada segmento de DNA que codifica una cadena polipeptídica re

cibe el nombre de gene.

Aminoácidos.- Los 20 aminoácidos hallados corrientemente como productos de la hidrólisis de las proteínas se parecen todos en que contienen un grupo  $\alpha$ -carboxilo y un grupo  $\alpha$ -amino, pero difieren entre sí en la naturaleza química de los grupos R sustituidos en el átomo de carbono  $\alpha$ . Se clasifican basándose en la polaridad de los grupos R. La clase no polar o hidrófoba comprende la alanina, la leucina, la isoleucina, la valina, la prolina, la fenilalanina, el triptofano y la metionina. La clase neutra polar incluye la glicocola, la serina, la treonina, la cisteína, la tirosina, la asparagina y la glutamina. En la clase con carga negativa (ácida) se hallan comprendidos los ácidos aspártico y glutámico. Finalmente, en la clase básica cargada positivamente, se hallan la arginina, la lisina y la histidina. En unas pocas proteínas especializadas pueden existir otros aminoácidos, tales como la hidroxiprolina la hidroxilisina y la desmosina.

Los aminoácidos monoamino-monocarboxílicos se comportan como ácidos dibásicos ( $\text{NH}_3\text{CHRCOOH}$ ) a valores bajos de pH. A medida que se aumenta el pH, a las proximidades de 6, se pierde el protón del grupo carboxilo para constituir la especie dipolar o ión híbrido  $+\text{NH}_3\text{CHRCOO}^-$  que es eléctricamente neutro. Un aumento ulterior del pH origina la pérdida de un segundo protón y se produce la especie iónica  $\text{NH}_2\text{CHRCOO}^-$ .

Las mezclas complejas de aminoácidos pueden separarse, identificarse y determinarse mediante cromatografía sobre papel o de columnas de intercambio iónico o bien mediante electroforesis y la solubilidad de los aminoácidos.

La hidrólisis parcial de las cadenas polipeptídicas, mediante ebullición de mezclas o por acción de las enzimas, da lugar a la formación de mezclas de péptidos pequeños, que pueden separarse por electroforesis o por cromatografía. La hidrólisis completa de una proteína produce todos sus aminoácidos en forma libre. No todas las proteínas contienen todos los aminoácidos, no todos los aminoácidos se encuentran con igual frecuencia.

Para determinar la secuencia de aminoácidos en una proteína se separan en primer lugar sus cadenas peptídicas, se determinan sus restos  $\text{NH}_2^-$  y  $\text{COOH}^-$  terminales y su contenido en aminoácidos. Una muestra de la cadena se escinde parcialmente mediante el empleo de tripsina, que hidroliza los enlaces peptídicos a los que la lisina o la arginina aportan el grupo carbonilo. Se separan los péptidos trípticos, se determina su contenido en aminoácidos y se establece su secuencia mediante la degradación de Edman. Otra muestra, intacta, de la cadena polipeptídica se escinde entonces mediante la acción de un segundo método, utilizando quimotripsina, pepsina o bromuro de cianógeno, para producir un conjunto diferente de fragmentos, los cuales son separados y analizados como en la

primera ruptura. De la superposición entre las dos series de fragmentos puede deducirse la secuencia de los mismos.

Cada proteína posee una secuencia aminoácida característica, todas las moléculas de un tipo determinado son de secuencia idéntica. Funcionalmente, las proteínas homólogas de diferentes especies tales como las hemoglobinas y los citocromos, poseen restos aminoácidos en ciertas posiciones invariables de la cadena; los demás restos pueden variar de una especie a otra. Cuanto mas distantes se hallan las especies, tanto mayor será el número de diferencias en aminoácidos en las posiciones variables, hecho que permite la construcción de "árboles" filogenéticos. Un tipo de proteína puede mostrar la sustitución de un solo resto aminoácido como resultado de una mutación del gene que codifica a aquella proteína. Las cadenas polipeptídicas largas de específica secuencia aminoácida pueden sintetizarse mediante procesos de laboratorio.

Conformación de las Proteínas.- Cada proteína posee, por lo menos una conformación tridimensional en la cual es estable y activa en condiciones biológicas de temperatura y de pH, ésta es su conformación nativa. El análisis mediante rayos X de las proteínas fibrosas  $\alpha$ -queratina,  $\beta$ -queratina, fibroína de la seda y colágeno, ha proporcionado claves importantes de su estructura. Las cadenas peptídicas de las  $\alpha$ -queratinas, presentes en el pelo y la lana, son arrollamientos  $\alpha$ -helicoidales dextro que se mantienen unidos

mediante un máximo de enlaces de hidrógeno intramoleculares. El oxígeno de cada carbonilo peptídico está unido mediante enlace de hidrógeno con el -NH del enlace peptídico situado cuatro lugares más allá en la secuencia. Los enlaces disulfuro cruzados de la cistina mantienen unidos los arrollamientos  $\alpha$ -helicoidales paralelos en las  $\alpha$ -queratinas. La fibroína de la seda y la  $\beta$ -queratina poseen una estructura laminar plegada, en la que los esqueletos polipeptídicos son antiparalelos o paralelos, respectivamente; se hallan unidos mediante enlaces de hidrógeno intermolecular cruzados. Las tres cadenas de colágeno forman hélices levógiras retorcidas, que se enroscan entre sí para constituir la unidad péptida básica de tropocolágeno de una fibrilla de colágeno.

La conformación de una cadena polipeptídica está determinada por el tamaño, la forma y la polaridad de los grupos R de sus aminoácidos, así como por la secuencia aminoácida. Los grupos R se hallan lo bastante próximos para que puedan ejercer acciones entre sí o con el disolvente, que limiten la libre rotación de los enlaces sencillos del esqueleto de la cadena peptídica. Otras limitaciones en la conformación de la cadena polipeptídica son las que imponen la naturaleza rígida y casi planar del enlace peptídico y la existencia de enlaces cruzados -S-S- covalentes.

El análisis mediante rayos X de las proteínas globulares muestra que sus cadenas están plegadas de modo compacto y dejan poco

espacio en el interior para moléculas de agua. Todos o casi todos los grupos R polares de las proteínas globulares se hallan sobre la superficie y están hidratados; los restos hidrófobos permanecen ocultos en el interior. Según sus secuencias aminoácidas, las proteínas globulares contienen cantidades ampliamente variables de hélices  $\alpha$  o de conformación  $\beta$ . Los restos de prolina determinan curvaturas en los arrollamientos  $\alpha$ -helicoidales.

La estructura cuaternaria de las proteínas oligoméricas se halla determinada también por la secuencia aminoácida primaria de los protómeros componentes. Las proteínas oligoméricas, tales como la hemoglobina y las enzimas alostéricas tienen propiedades de autoensamblaje. La construcción de las grandes proteínas a partir de cierto número de cadenas polipeptídicas separadas reduce al mínimo las consecuencias de los errores en la biosíntesis de proteínas, conserva el material genético y hace posibles interacciones reguladoras, como en el caso de las enzimas reguladoras.

El comportamiento ácido-básico de las proteínas se halla determinado, en gran parte, por los grupos R ionizables de la cadena o cadenas peptídicas, cuya tendencia a ionizarse puede hallarse incluida por grupos vecinos. Las curvas de valoración de muchas proteínas son aproximadamente funciones aditivas de sus grupos ionizantes. Cada proteína posee un pH isoeléctrico característico, al que no se moverá en un campo eléctrico. Por encima del pH isoeléct-

trico posee carga negativa, y por debajo carga positiva.

Las mezclas de proteínas pueden separarse basándose en sus velocidades relativas de movimiento en un campo eléctrico, bien mediante electroforesis libre, en disolución acuosa, o bien mediante electroforesis de zona, realizada sobre un gel o un soporte semisólido. La electroforesis de disco, especialmente, posee un gran poder de resolución. Las proteínas pueden separarse también mediante cromatografía de intercambio iónico o basándose en sus diferencias de solubilidad. Presentan una mínima solubilidad en su pH isoelectrico. La solubilidad de las proteínas aumenta por una fuerza iónica débil (solubilización por salado) y desciende por la presencia de concentraciones elevadas de sales neutras (precipitación por salado). La solubilidad disminuye también por adición de etanol o de acetona.

Mediante diálisis las proteínas pueden liberarse de solutos de peso molecular bajo.

El peso molecular de las macromoléculas puede determinarse mediante el método del número medio de partículas o por métodos del peso medio. Entre los más importantes se hallan tres tipos de procedimientos de sedimentación que utilizan la ultracentrífuga; velocidad de sedimentación, equilibrio de sedimentación y aproximación al equilibrio de sedimentación. Las proteínas pueden separarse también por sedimentación en gradientes de densidad de sacarosa o de

CsCl. Las proteínas se separan fácilmente, y sus pesos moleculares aproximados pueden determinarse mediante la cromatografía de exclusión molecular para lo cual se utilizan columnas de materiales polisacáridos inertes hidratados, tales como Sephadex, que actúan a modo de tamices moleculares. La forma aproximada de las proteínas en disolución pueden determinarse a partir de los radios de fricción o de medidas de viscosidad.

## CAPITULO 2

### ESTRUCTURA Y PROPIEDADES DE LAS PROTEINAS DE SOYA

Es poco conocida la estructura primaria de la proteína de soya. Ikenaka et al. (1963) encontraron la secuencia de los primeros cinco aminoácidos en la posición N-terminal del inhibidor de tripsina, Brown et al (1966) describieron, la secuencia de aminoácidos alrededor de dos uniones bisulfuro del inhibidor y Ozawa y Las koski (1966) las secuencias arginil-isoleucina con el sitio activo. Treinta y nueve residuos de aminoácidos de un total de cerca de 200 son señalados por secuencias conocidas al presente. Ikenaka y colaboradores también han determinado la secuencia primaria de la proteína de soya y se espera que la secuencia completa sea precisada en un futuro cercano.

Las estructuras primarias de hemaglutinina y globulina 7S son más complejas que las de otras proteínas de soya porque son glucoproteínas. En la hemaglutinina los carbohidratos independientes están unidos a un residuo independiente de ácido aspártico (Lis et al, 1969).

Solamente una proteína correspondiente a la fracción 11S de las proteínas extraíbles por agua ha sido aislada; la globulina 11S puede considerarse como la mayor proteína de la soya; tiene un peso molecular de aproximadamente 350000, típico de la mayoría de-

las proteínas de otros granos.

La información acerca de la estructura secundaria, terciaria y cuaternaria de la mayor parte de las proteínas de soya es limitada. El inhibidor de tripsina fué cristalizado hace más de 25 años, y recibió más atención que otras proteínas de soya, sin embargo la estructura detallada es prácticamente desconocida. Desde el punto de vista del tamaño, el inhibidor de tripsina es una molécula relativamente simple; consecuentemente, la tarea de descifrar la estructura de moléculas más complejas, semejantes a las globulinas 7S y 11S, es más problemática.

Globulina 11S.- La dispersión rotatoria óptica y mediciones infrarrojo sugirieron que la estructura secundaria y terciaria de la proteína 11S son similares a la estructura de la globulina 7S, (Fukushima 1968).

Los 12 grupos N-terminal de la proteína 11S indican que la molécula tiene una estructura cuaternaria compleja.

Globulina 15S.- Aún cuando esta proteína no ha sido aislada y caracterizada, es evidente que también tiene una estructura cuaternaria.

Electroforesis.- El uso de esta técnica para la determinación de propiedades electroquímicas de las proteínas de soya, ha sido muy limitado. La causa de esta escasez incluye la baja solubilidad de las globulinas en la región isoeléctrica (pH 4-5), la falta de

purificación de proteínas hasta recientemente, y un gran interés en el uso del gel electroforético como herramienta para dar homogeneidad y para la detección de subunidades.

La electroforesis ha sido usada en el estudio de la interacción de los fitatos con globulinas de soya, pero los resultados son difíciles de interpretar porque los componentes proteínicos y el complejo fitato-proteína no han sido bien resueltos (Smith y Rackis 1957). Este sistema necesita nuevos estudios puesto que el presunto complejo fitato-proteína migrará más lentamente que la proteína no complejada, a causa de la carga negativa del fitato a pH 7.6.

Shibasaki y Okubo (1966) observaron 13-14 bandas en la electroforesis sobre gel de almidón de proteínas de soya en regulador, tris-citrato de pH 8.6 con urea 7M y mercaptoetanol 0.02M. El componente l1S crudo (fracción críoin soluble) formó 3 bandas mayores, además de 3 bandas menores que migraron hacia el cátodo. Estas 3 fracciones menores fueron subsecuentemente aisladas y presentaron cadenas básicas de polipéptidos (Okubo et al, 1969).

Estructura subcelular.- Muchas semillas particularmente aquellas ricas en proteínas y aceite, contienen numerosas inclusiones subcelulares que son sitios de almacenamiento de proteínas, lípidos y otros constituyentes. Las partículas de proteína son llamadas cuerpos proteínicos o granos de aleurona, mientras que los de-

pósitos de lípidos reciben el nombre de esferosomas. Los cuerpos de proteína y esferosomas fueron identificados en cotiledones de soya mediante microscopio electrónico (Bills y Howell 1963; Saio y Watanabe 1966, 1968; Tombs 1967).

Los cuerpos proteínicos de soya fueron aislados por dos procedimientos. El de Saio y Watanabe (1966) por centrifugación diferencial en una mezcla de aceite de semilla-tetracloruro de carbono. El de Tombs (1967), por extracción con hexano en harina de soya (malla 350) y centrifugación por densidad de gradiente de sacarosa a pH 5 (el pH de solubilidad mínima de las proteínas mayores), para impedir el rompimiento de los cuerpos proteínicos.

De todos los solventes empleados agua, agua más álcali diluído (pH 7-9) y soluciones acuosas de cloruro de sodio (0.5-2M) están entre los más eficientes para la extracción de proteínas (Smith y Circle 1938; Smith et al. 1938, 1966), debido a que éstos solventes dejan a las proteínas en un estado desnaturalizado.

Para estudios de laboratorio, una relación de producto a solvente de 1:10 es adecuada para la extracción con o sin una segunda extracción de 1:5. Una relación de 1:20 ó 1:40 puede liberar una cantidad mayor de la proteína total, pero también resulta en soluciones más diluídas para pasos subsecuentes de fraccionamiento. Una excepción a la razón 1:10 de producto:solvente es la 1:5 de producto:agua recomendada para aislamiento del componente crudo

11S (fracción crioin soluble) por crioprecipitación (Briggs y Wolf 1957; Wolf y Sly 1967).

Extractos acuosos de producto desgrasado pueden prepararse generalmente a temperatura ambiente y solo raras veces a temperatura de refrigeración (Danielsson 1949).

Los extractos en agua destilada de soya desgrasada tienen un pH de 6.4-6.6 . La extracción a un pH mayor por la adición de álcali incrementa la cantidad de proteína extraída en un 5-10%; la baja del pH reduce drásticamente la cantidad de proteína extraíble. El mínimo de solubilidad de la proteína se encuentra en un pH de 4 - 5 que corresponde a la región isoelectrica para las proteínas principales.

Fraccionamiento.- Los métodos de fraccionamiento deben ser suficientemente suaves para mantener la estructura cuaternaria intacta. Una gran variedad de técnicas de fraccionamiento han sido apligadas a las proteínas de la soya pero la mayoría solo ha dado separaciones parciales. Consecuentemente la purificación de una proteína dada requiere una combinación de dos o más métodos basados en propiedades diferentes de la proteína. Se enumeran algunas de ellas:

Precipitación Isoeléctrica.- La precipitación de proteínas de soya de extractos acuosos o alcalinos por acidificación fue estudiada por Smith y Circle (1938), en sus trabajos sobre la relación

entre pH y solubilidad de las proteínas. El mínimo, en solubilidad a pH más o menos de 4.2 corresponde al punto isoeléctrico aparente de la proteína principal. La composición de agua o de extractos de hidróxido de sodio diluidos de alimentos desgrasados a pH 4.0-4.2 precipita cerca del 90% del extracto de proteína. La precipitación isoeléctrica se usa por consiguiente para la concentración de globulinas y para separarlas de constituyentes menores como azúcares y sales. La precipitación ácida también separa globulinas de proteínas menores contenidas en la fracción soluble de pH 4.2 o suero (Smith et al, 1955). Las desventajas de la precipitación isoeléctrica de las proteínas particularmente a partir de un extracto acuoso desgrasado son; a) poco fraccionamiento de las globulinas, si es que lo hay; b) combinación de fitatos y posiblemente de otros compuestos de bajo peso molecular con las globulinas (Smith y Rackis, 1957); y c) insolubilización de algunas de las proteínas (Wolf et al., 1964; Nash et al., 1971).

La electroforesis ha demostrado que la proteína precipitada isoeléctricamente es una mezcla de al menos 4 a 5 componentes (Briggs y Mann, 1950).

Cationes Metálicos.- Los cationes metálicos particularmente el calcio y el magnesio han sido usados como precipitantes de proteínas de soya calentada. Smith y colaboradores (1938) encontraron que el cloruro de calcio 0.0175N precipitó cerca del 80% de las

proteínas en un extracto acuoso de soya desgrasada pero no las caracterizaron. Briggs y Mann (1950) encontraron que la adición de cloruro de calcio a extractos acuosos de soya después de remover la proteína 11S crioprecipitable aumentaba la proteína en el precipitado. Un estudio muy detallado reveló que las fracciones 11S y 15S son precipitadas cuantitativamente por adición de cloruro de calcio 0.1N y enfriamiento (Wolf y Sly, 1967). Por consiguiente dentro de éstas condiciones, cerca de 1/3 de la fracción 2S y 1/2 de la fracción 7S son también precipitadas. Estrechamente relacionado a la precipitación de proteína de soya por iones calcio es el uso de calcio para fraccionamiento de extractos de proteína desgrasados.

Crioprecipitación. - Uno de los métodos principales en la purificación parcial de la proteína 11S consiste en hacer un concentrado del extracto acuoso de soya desgrasado a 25-40°C y enfriamiento del extracto a cerca de 0°C, el extracto se enturbia y forma un precipitado que no puede ser eliminado por centrifugación en frío, (Briggs y Mann, 1950; Briggs y Wolf, 1957). Este proceso llamado crioprecipitación cede una fracción de proteína (proteína precipitable en frío) que aparece homogénea pero comprende hasta cuatro fracciones por ultracentrifugación (Wolf y Briggs, 1959). El componente ultracentrifugado puede proporcionar 69-88% del crioprecipitante (Wolf y Sly, 1967). La crioprecipitación es el método de

elección para la purificación inicial de la proteína 11S.

Altas concentraciones de cloruro de sodio o sacarosa inhiben la crioprecipitación. El componente 11S puede precipitarse casi completamente de un extracto acuoso al ajustar el extracto a 0.1N con cloruro de calcio a pH 5.4 aplicando enfriamiento. Dentro de estas condiciones el crioprecipitado contiene cantidades crecientes de las fracciones 2S, 7S y 15S en comparación al precipitado obtenido en ausencia de cloruro de calcio a pH 6.4-6.6 (Wolf and Sly, 1967). La crioprecipitación causa que hasta el 40% de la proteína 11S se polimerice, comparado con solamente 10% de polimerización con N-etilmaleimida presente durante la precipitación. La polimerización más extensa de 11S acontece durante la precipitación por diálisis contra agua destilada.

#### PROPIEDADES FISICAS DE LA PROTEINA DE SOYA

Solubilidad.- La solubilidad de la proteína de soya es sensible al pH y sales. Las globulinas son insolubles en la región isoelectrica pero son apreciablemente solubles si se añaden sales (Smith and Circle, 1938). Por ejemplo, la proteína 11S es soluble a pH 4.0 en cloruro de sodio 1M; sin embargo precipita a más bajas concentraciones de sulfato de amonio que cuando la precipitación se efectúa a pH 7.6 (Wolf et al., 1962).

Los fitatos deben ser eliminados antes de intentar los estudios de solubilidad. Otro factor que afecta la solubilidad de algu

nas proteínas de soya es la polimerización bisulfítica.

Precipitación con Sulfato de Amonio.- El fraccionamiento de proteína l1S cruda (fracción crioin soluble) entre 51 y 66% de saturación con sulfato de amonio a pH 7.6 permite la precipitación a pH 4.0 de la fracción l1S con más o menos 90% de pureza (Wolf et al., 1962).

Fraccionamiento con Solventes Orgánicos.- El fraccionamiento de proteínas de soya por precipitación con solventes orgánicos, tal como alcoholes y acetona, incluye al inhibidor crudo de la tripsina (Bowman, 1946; Birk et al., 1963), lipoxigenasa (Mitsuda et al., 1967), y hemaglutinina (Liener, 1953), debido a que las proteínas de la soya, en común con muchas otras proteínas, son sensibles a los solventes orgánicos.

Extracción Fraccionada.- Las globulinas precipitadas por ácido pueden extraerse a pH 4.8 con incremento de concentraciones de cloruro de sodio dando preparaciones aprovechables de l1S con 90% de pureza (Wolf y Briggs, 1959).

Cromatografía con Hidroxilapatita.- Este procedimiento proporciona una separación completa de una porción de la fracción 2S a partir de fracciones ultracentrifugadas y revela que la fracción 7S consiste por lo menos de dos proteínas diferentes. Ambas globulinas, 7S y l1S de 80-85% de pureza, son obtenidas por cromatografía sobre éste adsorbente. Otras proteínas de soya que han sido

purificadas por cromatografía con hidroxilapatita son: amilasa (Gertler y Birk, 1965), citocromo C (Fridman et al, 1968), hemaglutinina (Lis et al, 1966B) y globulina 2S (Vaintraub, 1965; Vaintraub y Shutoy, 1969).

#### DES NATURALIZACION DE LAS PROTEINAS DE SOYA

La información actual indica que la proteína de soya tiene estructura compacta como pequeña hélice opuesta al azar, conformación típica de la caseína de la leche (McKenzie, 1967). Los estudios de desnaturalización de las proteínas de soya, proporcionan varios tipos de información; a) los límites de las condiciones a las cuales la estructura es estable, b) la naturaleza de la conformación y los cambios que ocurren durante la desnaturalización y c) la estructura de las moléculas de proteína.

Para propósitos de definición, la desnaturalización consiste en un cambio mayor de la estructura original sin alteración de la secuencia de aminoácidos (Tanford, 1968).

Algunos tratamientos tecnológicos son beneficiosos para la calidad de la proteína; el calentamiento de muchos alimentos proteínicos vegetales aumenta la digestibilidad como resultado de la desnaturalización de la proteína. Tratamientos térmicos severos o de pH, deterioran la calidad atribuyéndose a modificaciones de la estructura primaria de la proteína. Un sobrecalentamiento de harina de soya desengrasada destruye parcialmente la cisteína, aminoá

cido limitante, además la lisina, arginina, triptofano y serina.

Las modificaciones químicas de los alimentos proteínicos pueden reducir el contenido de los aminoácidos esenciales y en algunos casos conducir a la formación de sustancias tóxicas.

La desnaturalización de las proteínas de soya por calor húmedo, es bien conocido y tuvo gran uso para eliminar factores antinutricionales, de algunos productos de soya y harinas. Se sabe poco de las reacciones que las proteínas de la soya llevan a cabo cuando son calentadas. Los primeros estudios trataron de los efectos del calor y humedad sobre productos desgrasados y estuvieron principalmente referidos a las mediciones de las cantidades de proteína soluble remanente después del calentamiento (Beckel et al., 1942; Belter y Smith, 1952). Se han señalado cambios en la extracción de los componentes de las diferentes proteínas como una función del tiempo de calentamiento (Shibasaki et al., 1969).

Cuando el producto de soya con un peso igual de agua se calienta arriba de 100°C en autoclave, la proteína soluble en agua decrece a un mínimo y luego se incrementa otra vez en la medida en que el calentamiento continúa (Fukushima, 1959A). De la misma manera, el calentamiento a 100°C, con mayores cantidades de agua, solubiliza grandes cantidades de proteína aún después de calentar por 30 minutos (Fukushima, 1959B), de aquí el método desarrollado de digestión proteolítica para medir la extensión de la desnaturaliza-

ción para suprimir las dificultades inherentes a los métodos de solubilidad.

Watanabe y Nakayama (1962) calentaron proteínas hidrosolubles de soya a pH 7.0 y confirmaron la formación de agregados. Después de calentar 10 minutos a 100°C, solo la fracción 5S y una 2S fueron detectadas por ultracentrifugación; a los 30 minutos de calentamiento, la fracción 5S desapareció dejando solo la fracción 2S. Saio et al. (1968) presentaron más evidencias de agregación por calentamiento de proteína de soya.

Catsimpoolas y Meyer (1970) indican que el calentamiento de las globulinas de soya a concentraciones de 8% las convierten de un estado de pro-gel a gel al enfriar. Esta conversión de gel es reversible. Excesivo calor o adición de sustancias químicas, semejantes a agentes como uniones bisulfuro forman un estado "metasol" el cual no es gel. Efectos de pH y fuerza iónica sobre la viscosidad de los progeles y geles fueron examinados.

Solo unos datos limitados son aprovechados en la desnaturalización por calor de las proteínas purificadas de soya. Kunitz (1948) hizo un estudio clásico de la cinética y termodinámica de la desnaturalización por calor del inhibidor de tripsina, crystalizado. Las proteínas consistieron de una cadena simple de polipéptidos encadenados en cruz por dos uniones bisulfuro (Wo y Scheraga, 1962), que se inactiva cuando se calienta en solución pero se reco

bra por enfriamiento.

Efectos beneficiosos de la desnaturalización de proteínas  
vegetales por efecto de calor moderado

Se ha reportado que la digestibilidad y disponibilidad de varios aminoácidos es baja en muchos alimentos vegetales. En legumbres especialmente, el calor mejora la calidad de la proteína y destruye inhibidores del crecimiento y otros factores tóxicos. En las proteínas de soya, el aumento del valor nutritivo por el calor moderado se debe generalmente a la destrucción de factores antimetabólicos como las antitripsina y fitohemaglutininas, ambas de naturaleza proteínica. Esto trae como consecuencia deficiencias severas en aminoácidos sulfurados. La pobre digestibilidad de las globulinas parece ser el factor más importante en el retardo del crecimiento y pérdida de N fecal. El tratamiento con calor húmedo de la soya cruda causa desnaturalización de las proteínas, inactivando los inhibidores de la tripsina y haciendo más digestibles las globulinas. Se ha demostrado que el mejor valor nutritivo se obtiene sometiendo a la soya en autoclave, durante una hora a 100°C. ó 30 minutos a 121°C. Mustakas et al (1962) encontraron que el PER (razón de la eficiencia proteínica) de la harina de soya sin desengrasar alcanza el máximo después de un tiempo de extrusión de 2 minutos a 135°C (con un contenido de humedad de la harina del 20%).

Estas condiciones destruyen un 89% al inhibidor de la tripsina.

El contenido de lisina disponible y tiamina prácticamente no variaron. El tratamiento por extrusión, alta temperatura-corto tiempo, de muestras que tienen alto contenido de proteína son menos perjudiciales que el calentamiento en secadores de tambor. La proteína texturizada de soya tiene un alto valor del PER (suplementada con metionina igual a 2.82 y mayor que la caseína y la carne).

En conclusión, el tratamiento térmico moderado en muchos alimentos proteínicos vegetales aumenta el valor nutricional, debido principalmente a la desnaturalización de la proteína; 1) Inactivación de sustancias tóxicas de naturaleza proteínica. 2) Más constituyentes proteínicos son digestibles. Un sobrecalentamiento relativamente húmedo puede ocasionar una disminución en el contenido de la mayoría de los aminoácidos termolábiles, cistina y una parcial indisponibilidad de la mayoría de los aminoácidos reactivos, lisina principalmente, por reacciones con azúcares reductores presentes en la semilla o harina, (reacción de Millard).

Los efectos de alto a bajo pH en la mayor parte de las proteínas (globulinas 7S y 11S) parecen consistir en una disociación de las moléculas posiblemente en sus subunidades por repulsión electrostática entre las cargas positivas o negativas sobre las proteínas.

Las globulinas de soya preparadas por precipitación ácida, se convierten progresivamente en una mezcla de fracciones 2S, 7S, 11S

y 15S cuando el pH fué bajando desde 3.8 a 2 y fuerza iónica de 0.06 (Rackies et al., 1957). La fracción 11S aparece a pH 3.0 cuando la fuerza iónica es de 0.15, pero a alta fuerza iónica se vuelve inestable y aparece como agregado. Una serie compleja de reacciones de asociación-disociación influenciados por el pH y la fuerza iónica explican este comportamiento en soluciones ácidas.

La proteína 11S sufre cambios en el coeficiente de sedimentación y rotación óptica a medida que el pH y fuerza iónica van bajando.

Las soluciones de globulinas de soya en hidróxido de sodio - (pH 12) aumenta en viscosidad y formación de gel, (Kelley y Presesey, 1966).

La disociación parcial de la proteína 11S en subunidades ocurre aún cerca de la neutralidad, a fuerza iónica baja y ausencia de cationes divalentes como el calcio.

Smith et al. (1951) estudiaron los efectos del tiempo, temperatura y concentración de metanol, etanol, isopropanol y acetona en la extracción de proteínas de soya desengrasada. Las soluciones acuosas de solventes orgánicos son más efectivas que el agua o los solventes puros en la desnaturalización de las proteínas. La desnaturalización por solventes orgánicos es completa en cerca de 5 minutos. Fukushima (1969) estudió la desnaturalización de las proteínas en soya desengrasada por una variedad de solventes orgánicos.

Los no miscibles en agua fueron desnaturalizantes débiles, pero los miscibles resultaron más fuertes que los solventes puros. Los alcoholes diluídos, fueron más efectivos.

Los estudios electroforéticos de Mann y Briggs (1950) indicaron que la fracción globulina es la más afectable por el alcohol.

La máxima desnaturalización, ocurrió a 60% alcohol siendo la fracción 7S la más sensible mientras que la fracción 2S fué más estable al etanol (Roberts y Briggs, 1963). Con isopropanol, la desnaturalización máxima de las globulinas ocurrió con alcohol de 40% (Wolf et al., 1964). Nuevamente la fracción 7S fué más fácilmente desnaturalizada mientras la fracción 2S fue comparativamente estable.

#### INMUNOQUIMICA DE LAS PROTEINAS DE SOYA

Catsimpoolas y Meyer (1968) han investigado extensamente la aplicación de las técnicas de inmunodifusión e inmunolectroforesis para caracterizar las proteínas de soya. Su estudio inicial demostró al menos 5 componentes en las proteínas extraíbles por agua y 3 componentes en las globulinas precipitadas isoeléctricamente. La proteína 11S purificada formó solamente una banda de precipitación cuando se difundió contra anticuerpos de las proteínas extraíbles por agua. La proteína 11S retiene sus propiedades inmunoquímicas a calentamiento de 80°C; a temperaturas más altas la proteína precipita. Las mediciones de difusión simple indicaron que se puede es-

timar cuantitativamente la proteína IIS por este método.

Las técnicas simples de inmunodifusión para la estimación del inhibidor de tripsina también han sido descritas (Catsimpoolas et al, 1969D; Catsimpoolas y Leuthner, 1969B). Esta aproximación ofrece la posibilidad de que varias proteínas presentes en productos de soya puedan ser determinadas cuantitativamente. Las técnicas inmunoquímicas fueron usadas para demostrar homogeneidad de la lipsoquinasa de la soya (Catsimpoolas, 1969B) y las hemaglutininas (Catsimpoolas y Meyer, 1969). Aunque se han aislado 4 diferentes hemaglutininas por métodos isoeléctricos, estas fueron idénticas in munoquimicamente.

## CAPITULO 3 .

### PROPIEDADES FUNCIONALES DE LAS PROTEINAS Y CONCENTRADOS Y AISLA- DOS PROTEINICOS DE SOYA

No se ha puesto mucho énfasis en la funcionalidad, elemento crítico en el cumplimiento de esta tarea. Es por supuesto axiomático, que para cumplir su labor nutritiva un alimento debe ser ingerido. Tanto los seres humanos como los no humanos han demostrado consistentes y distintos gustos por los alimentos, la mayoría sin relación a su valor nutritivo, pero fuertemente influenciada por propiedades funcionales. (Pour-El, 1981). Como señaló Yudkin (1974) las propiedades nutritivas pueden a lo más ser incentivos adicionales en la utilización de alimentos que son deseables debido a su valor y apariencia. La población con nivel educativo alto está cambiando y prefiere que los alimentos presenten propiedades funcionales de acuerdo a la tradición. El químico de alimentos debe proporcionar alimentos nutritivos con las propiedades funcionales más deseables para asegurar su amplia asimilación. Todas las propiedades de productos biológicos que van a ser industrializados, son por definición funcionales. Se necesita un mayor énfasis en la clasificación, evaluación y modificación de las propiedades funcionales como un prerequisite a su utilización eficiente (Tabla 1).

Las propiedades funcionales se dividen de acuerdo a patrones

diferentes. Las propiedades enzimáticas son funcionales debido a la acción de la catálisis que es de por sí no nutricional. En ciertos casos, cuando se adicionan enzimas a los alimentos como ayuda a la digestión podrían considerarse como mejoramientos metabólicos. De otra forma, cuando se usan externamente para preparar productos que tienen características más útiles químicas y físicas, la naturaleza digestiva es indudablemente una propiedad funcional. Debe notarse sin embargo, que la funcionalidad enzimática generalmente no se estudia junto con las otras funcionalidades, sino que es una rama distinta y separada de la bioquímica de la evaluación funcional. Teóricamente una división más científica de las propiedades funcionales podría hacerse en moleculares y no moleculares. (Las propiedades enzimáticas serían una división de la primera). Sin embargo, las líneas tradicionales también han sido fijadas y la división propuesta es más cercana a las disciplinas de investigación actual.

Las características funcionales de los alimentos no enzimáticos son separadas en 2 factores: 1) Afección sensorial, comprendiendo todas esas propiedades que influyen la utilización a través de su percepción por uno o más de los cinco sentidos; y 2) manipulativo, aquellas propiedades que afectan la utilización del producto según se faciliten o dificulten los varios pasos del proceso (en casa o en la planta comercial).

Las propiedades industriales pueden incluir algunas enzimáticas y manipulativas pero mayormente están relacionadas con utilización no alimenticia.

Al proponer estas divisiones, uno debe reconocer que las propiedades híbridas son también posibles. Así, una propiedad emulsificante de una proteína puede usarse como propiedad de mejoramiento organoléptico - para preparar un producto alimenticio suave - o uno - manipulativo - para dar una subdivisión o administración unificada.

### Definiciones

Característica funcional.- El agregado de las propiedades funcionales de un producto.

Ensayo de capacidad funcional (o prueba funcional).- Cualquier evaluación cuantitativa de una propiedad funcional.

Evaluación funcional.- Evaluación de las propiedades físico - químicas básicas que influyen las características funcionales. (Por esta definición las pruebas funcionales de las propiedades enzimáticas son evaluaciones funcionales).

Sistema modelo (o prueba modelo).- Evaluación de una o más propiedades funcionales que no reproducen completamente los pasos o ingredientes de la preparación actual de un alimento.

Sistema utilitario (o prueba utilitaria o prueba del alimento)  
Una evaluación de una propiedad funcional que reproduce la prepara

**TABLA 1**  
**TIPOS DE ALIMENTOS Y SUS FUNCIONALIDADES**

TIPO	FUNCIONALIDAD
Bebidas	Solubilidad, color, consistencia.
Alimentos horneados	Emulsificación, formulación compleja, espumante, propiedades viscoelásticas, formación de película y de matriz, gelación, dureza y absorción.
Sustitutos de leche	Gelación, coagulación, espuma, capacidad de retención de grasa.
Sustitutos de huevo	Espumante, gelación.
Productos de emulsión de carne	Emulsificación, gelación, capacidad de retención de líquido, adhesión, cohesión, absorción
Extensores de carne	Capacidad de retención de líquido, dureza, elasticidad, cohesión, adhesión.
Sopas y aderezos	Viscosidad, emulsificación, absorción de agua.
Cubiertas	Espumante, emulsificante
Postres batidos	Espumante, gelación, emulsificación.

-- En todas estas características funcionales el sabor es importante.

ción del alimento en todas sus particularidades.

Valor funcional.- Una característica general de las características funcionales de un producto que enfatiza su utilidad; es un término cualitativo y puede establecer que una proteína puede tener un valor funcional como emulsificante o agente gelante.

Factores de Procesamiento que Afectan las Características Funcionales.

Hay 7 grandes pasos de proceso que usualmente tienen alguna influencia sobre las características funcionales del producto como sigue:

Fuente de la proteína y variedad.- Escogiendo una proteína particular, uno puede incrementar una característica funcional; por ejemplo, aumentando la concentración de aminoácidos de azufre se mejorará el gelado de los ingredientes de la proteína.

Extracción.- Ya sea de la proteína a partir de su fuente, o de la extracción de otros componentes, esto afecta sus características funcionales.

Temperatura.- El efecto de la temperatura puede tener un significado importante sobre las características funcionales. Debe mencionarse también la posibilidad de alteraciones por recocado (el mantenimiento de un material a temperatura constante por un período de tiempo) sobre ciertas características funcionales como la absorción de agua.

Secado.- Los métodos de secado influyen las características funcionales dependiendo de la temperatura usada. Las modificaciones de porosidad y tamaño de partícula también son observados durante este tratamiento.

Historia iónica.- La historia del pH de la muestra de la proteína influye en su estado de naturalización y su conformación. También, la presencia de iones particulares pueden influir drásticamente en las características funcionales a través de la formación de complejos con diversas propiedades.

Impurezas.- La presencia de otros componentes como grasas, carbohidratos insolubles, azúcares, etc., tienen gran efecto sobre las características funcionales de la proteína producto. Pueden ocurrir reacciones complejas que afectan severamente las propiedades; (por ejemplo, contextura arenosa resultante de componentes insolubles).

Almacenamiento.- Afecta la estabilidad de la proteína como producto en diferentes grados. Aún el almacenamiento en cuarto frío que aparentemente no deteriora el estado de naturalización, puede producir otras reacciones químicas, no todas benéficas. El contenido de humedad durante el almacenamiento es un factor bien conocido que afecta las características del producto.

#### Modificación de las Propiedades Funcionales

Hay tres vías principales para alterar las propiedades funcio

nales de una proteína como producto incluyendo: físicas, químicas y biológicas.

Físicas.- Involucran los cambios en el tamaño de la partícula por efecto de la temperatura, remoción de volátiles y humedad, y alteraciones en la forma.

Químicas.- Dependen de las alteraciones en la naturaleza físicoquímica del producto por modificaciones en el pH, digestión enzimática, manipulación iónica, formación de complejos.

Biológicas.- Cuando se usa la fermentación como un paso para alterar las características funcionales.

#### Prueba de una Proteína Producto por Propiedades Funcionales

El análisis químico para la composición general es esencial para la prueba futura de características funcionales. El porcentaje de una proteína y otros componentes puede invariablemente ser una buena guía de las propiedades funcionales esperadas. El análisis físico por tamaño de la partícula, apariencia y densidad también ayuda en la búsqueda de una buena característica funcional.

Mezclado.- Este paso incluye a veces un paso de preexposición en el cual el producto probado se deja equilibrar con el medio de prueba. La severidad del mezclado (presencia de ruptura) y su duración afectarán los resultados de la prueba, no solo a través del calor generado sino también por efectos específicos moleculares como la desnaturalización.

Temperatura.- Las moléculas de proteína son muy susceptibles a los efectos del calor. Por eso, la mayoría de las pruebas se tienen que definir claramente en estas condiciones. En muchas pruebas tradicionales aún no empleadas, el control adecuado de temperatura no se busca. Esto lleva a las discrepancias frecuentemente observadas en la literatura.

Medio iónico.- Debido a que muchas de las propiedades de los productos de proteína dependen de su configuración iónica y naturaleza anfótera, los cambios en el pH pueden influenciar severamente los resultados. Son recomendables los medios estandarizados, o preferentemente, correlacionar los resultados con los cambios de pH en el medio. Análogamente, la presencia de otros iones se debe establecer claramente o ser excluida.

Condiciones de Esfuerzo.- En muchos casos las condiciones de esfuerzo se emplean tanto antes o como una parte del propio procedimiento de medición. La estandarización de estas condiciones de esfuerzo o ausencia, modifican grandemente los resultados de las pruebas.

Medición de Solubilidad.- El esquema general de prueba para la solubilidad involucra subdivisión, exposición, agitación, separación y medición (Kinsella, 1979; Yasumatsu, et al., 1972).

La severidad de la agitación y separación determina si el medio separado tiene proteínas en solución (valores de solubilidad

de proteína) o en dispersión (valores de dispersión de proteínas). Los términos índice de solubilidad de nitrógeno (ISN) y el índice de dispersión de proteínas (IDP) se usarán solamente cuando los métodos oficiales así nombrados sean empleados. Cualquier desviación de estos procedimientos (tales como pH, iónico o modificación de equipo) deben destacarse por el uso de otros términos como índice de solubilidad de proteína (ISP) o preferentemente, valor de solubilidad de proteína (VSP). El proceso de separación en estos métodos es por aplicación de fuerza o filtración.

Asimilación de Agua.- Este nombre se usa genéricamente para caracterizar todas las propiedades de interacción entre la proteína producto y el agua como resultado del cual parte del agua permanece con el producto (Hutton, 1977; Berlin, et al, 1970; Miller, 1968). La extracción hidrofílica se manifiesta en la cantidad tomada en la absorción (o hidratación verdadera) e hinchazón (incremento en el volumen del producto). Puede manifestar la cantidad que permanece con el producto después de exposición al exceso de agua como en contacto con agua, retención de agua o capacidad de soporte de agua. Otro aspecto de esta atracción es la humedad o la razón de asimilación de agua. Los pasos uniformes para estas pruebas incluyen exposición, separación y medición; a veces, la agitación se lleva a cabo después de la exposición, y la subdivisión primero que aquella. La severidad de la separación es de especial signifi-

ficancia en estos métodos y tiene gran influencia sobre los resultados.

Propiedades de interfase.- Estas propiedades pueden explicarse mejor por su relación con la familia general de los coloides (Tabla 2).

Emulsificación.- Las emulsiones son gotas inmiscibles dispersas dentro de otro líquido estabilizado por compuestos de interfase (Acton y Saffle, 1970; Yasumatsu et al., 1972) cuando se trata de proteínas el líquido disperso es una grasa o aceite y la interfase estabilizante un producto de proteína en la mantequilla estas fases son al revés.

Las emulsiones se pueden dividir en 3 clases principales dependiendo de la consistencia: delgada, gruesa o sólida.

La capacidad de emulsión es propiedad de la solución del producto de proteína o su suspensión para emulsificar aceite. La medición es de la máxima cantidad de aceite que la mezcla emulsifica sin perder sus características de emulsión y los pasos en esta prueba son: 1) Hidratación, formación de la mezcla acuosa, 2) Adición de aceite, con agitación es la causa de la emulsificación, 3) Esfuerzo: resultado del calor generado durante la emulsificación, 4) Medición del punto de ruptura (visual, sónico, electrónico, etc.) y la cantidad de aceite emulsificado (capacidad), del punto de ruptura (volumétrica, gravimétrica, viscométrica, etc.).

**TABLA 2**  
**SISTEMAS COLOIDALES**

FASE DISPERSA	FASE CONTINUA	NOMBRES COMUNES.	EJEMPLOS
Sólida	Líquida	Coloide en suspensión	Proteínas disueltas en agua
Líquida	Líquida	Emulsión	Leche, mayonesa
Gaseosa	Líquida	Espuma	Cubiertas batidas
Líquida	Sólida	Gel, Emulsiones sólidas.	Jaleas, productos alimenticios
Gaseosa	Sólida	Estructuras abiertas	Alimentos horneados, productos texturizados

La estabilidad de la emulsión es la propiedad del emulsificador (las moléculas de interfase) para estabilizar una emulsión siguiendo su formación y a veces, siguiendo ciertas condiciones de esfuerzo. En esta prueba solo se observaron 3 pasos: emulsificación, esfuerzo y medición. El esfuerzo puede ser una fuerza aplicada (gravedad o fuerzas centrifugas) o calor o combinación de ambos.

Los factores metodológicos que tienen una influencia especial sobre estas pruebas de propiedades emulsificantes son métodos de subdivisión para el sistema coloidal, relación de componentes (agua a proteína, proteína a aceite), y la naturaleza de la grasa empleada.

Absorción o retención de grasa.- Son métodos originalmente diseñados para sistemas de 2 fases, esto es, el material y el aceite incluyen los sistemas modelo imitando las emulsiones sólidas que contienen grandes cantidades de agua y partículas acuosas (Anderson y Link, 1975; Berry, et al., 1965).

La absorción de grasa y las propiedades de afinidad son determinadas por la mezcla de ingredientes alimenticios con grasas y aceite, y después un paso de separación (centrifugación) se mide la cantidad de aceite absorbido. Esta prueba es similar a la de absorción de agua, esto es, el método incluye los pasos de subdivisión, agitación, separación y medición.

La capacidad de retención de grasa debe usarse en los casos

donde las preparaciones acuosas de los materiales son tratados con grasas y aceites (como en algunas preparaciones de alimentos), esfuerzo aplicado (usualmente por calentamiento) y el aceite separado medido. Una prueba común de esta naturaleza es una usada en los sistemas de emulsificación de carne siguiendo su proceso de cocimiento. La metodología especial influye fuertemente afectando estas pruebas y son las relaciones de componentes, la naturaleza de la grasa y las técnicas de medición.

Aireación.- Esta propiedad de interfase de los productos de proteína también llamada espumante o de batida depende de la habilidad de la proteína para formar películas protectoras alrededor de burbujas de gas. La coalescencia y el subsecuente rompimiento del sistema de membrana alrededor de las burbujas por las proteínas se previene de esa forma (Berry, et al., 1965; Sekul, et al., 1978).

La capacidad espumante es una medida de la habilidad de la proteína para formar un sistema celular lleno de gas bajo condiciones especificadas; las condiciones especiales aún no han sido bien estandarizadas. En la práctica la aireación incluye solución, atrapamiento de aire y medición. La última puede expresarse como porcentaje de volumen. También se usan la viscosidad de la espuma, la densidad y/o la energía de entrada.

La estabilidad de la espuma es una medida de la habilidad del

producto para mantenerse una vez formada sin colapsarse. De nuevo, ni los sistemas de formación de espuma ni las condiciones de prueba han sido estandarizados. La última incluye algunas condiciones de esfuerzo (a veces solamente la fuerza de gravedad sobre la espuma) y técnicas de medición como volumen final, razón de cambio de volumen o peso o volumen del escurrimiento. Las influencias metodológicas especiales son la aireación y la medición. El rompimiento incluido en la formación de espuma debe ser bien balanceado para dar suficiente fuerza que cause la desnaturalización de la película parcial sin exceder el balance del sistema.

Mediciones de Interacción Intermolecular.- Las propiedades funcionales son dependientes de las moléculas de proteína interactuando con otras de su misma clase o de otra clase (Fleming, et al 1974; Beauchat et al., 1975; Finney, 1972; Tung, 1978).

Viscosidad.- Al discutir esta propiedad se incluye no solamente la viscosidad sino la fluidez y grosor en suspensiones pesadas. Las herramientas usadas en la medición de viscosidad varían desde equipo sofisticado como viscosímetros registradores a simples viscosímetros de capilaridad, de taza unidades de bola y aún simples tubos de prueba que dan valores semi-cualitativos. Los factores metodológicos especiales incluyen la concentración de proteína especialmente en mezclas termotrópicas, temperatura, la cual en este caso altera los valores severamente y los sistemas de medición,

los cuales no pueden ser sustituidos uno por otro sin causar severas discrepancias en los resultados obtenidos.

#### Formación de Matriz y de película

En esta categoría se incluye gelación y formación de fibra, película y pasta (Hermansson, 1979; Finney, 1972; Huang y Rha, 1971; Aoki, 1965; Aoki y Sakurai, 1969; Cumming y Tung, 1977; Evans et al 1963; Fleming y Sosulski, 1978; Kelly y Pressey, 1966; Matthews et al., 1970; Pour-El et al., 1976) en todas estas propiedades el proceso comprende la habilidad de la proteína para formar enlaces intermoleculares de naturaleza estable para dar una forma distinta, semisólida que es a veces transformada a una forma más sólida por un procesamiento posterior. La metodología general incluye la hidratación y dispersión del producto en medios acuosos, aplicación de temperatura, esfuerzo y medición. La última emplea usualmente herramientas de medición de resistencia de la matriz a deformaciones, por ejemplo, viscosímetro, gelómetros, penetrómetros y registradores de esfuerzo o deformación. También se han desarrollado algunos métodos microscópicos novedosos. Los factores metodológicos especiales son la capacidad de hidratación, los medios de fija ción, especialmente temperatura, el esfuerzo aplicado durante la medición y las impurezas presentes.

Propiedades de Textura Sólida.- Estas propiedades son resultado frecuentemente del tratamiento posterior de la matriz y la pelí

cula. Deben tratarse separadamente debido a los métodos distintos de sus ensayos (Aguilera y Kosikowski, 1976; Taranto et al. 1978)

La metodología general incluye la preparación de la textura sólida. Las técnicas y mediciones pueden ser la aplicación de fuerzas tales como esfuerzo puro (o deformación) cortante, o sus combinaciones y la medición de la resistencia a este procedimiento (Tabla 3). También se usan métodos especiales como inspección visual o microscópica, mediciones de densidad del producto y la facilidad de su desintegración acuosa (pantalla húmeda).

Las propiedades con estos métodos son muy diversas, solo recientemente algunas de ellas han sido claramente definidas en relación a la metodología incluida y correlación obtenida entre los análisis objetivos y las pruebas subjetivas.

#### PROPIEDADES FUNCIONALES DE LA PROTEÍNA DE SOYA

De acuerdo con Rakosky (1981), las proteínas de soya son productos versátiles los cuales han sido usados en muchas aplicaciones alimenticias para obtener uno o más efectos benéficos. De interés particular son sus usos en procesamiento de productos.

En el uso de las proteínas de soya en varios sistemas se toman en cuenta una o más propiedades funcionales tales como:

Unión de agua

Unión de grasa

Simulación de sabor y/o mejoría de sabor

TABLA 3

PROPIEDADES MEDIBLES DE TEXTURA

METODO	PROPIEDADES MEDIBLES
Esfuerzo (deformación)	Dureza, plasticidad, elasticidad, resorteo, (jugosidad)
Corte	Cohesión, adhesión, jugosidad
Visual	Propiedades combinadas de naturaleza porosa desconocida
Otros	Resistencia a agentes, dureza, porosidad

Emulsificantes

Estabilizadores de emulsión

Gelación

Fortificaciones proteínicas

Reducción de calorías

Control de textura

Reducción de costo mediante el reemplazamiento parcial o complemento de la carne.

#### Concentrados de Proteína de Soya

El concentrado de proteína de soya (CPS), es un producto superior a la harina de soya y sémola, que tiene un contenido de proteína relativamente alto, es de sabor suave y prácticamente libre del factor flatulento. El CPS puede obtenerse por tres métodos, pero en cualquier caso implica la extracción selectiva de hojuelas de soya desgrasada, harina o sémola. En este proceso de extracción los azúcares solubles y otros componentes menores son removidos dejando a la proteína y polisacáridos mayores aparte.

La principal diferencia notada en los tres tipos es el índice de nitrógeno soluble (INS). El producto desnaturalizado por calor tiene el más bajo índice de nitrógeno soluble, mientras que en el producto lavado isoelectricamente el índice es más alto. Por esta razón el producto lavado isoelectricamente tiene la mayor funcionalidad aproximándose al de un aislado. A partir del sabor y del color, el

producto lavado con alcohol es el mas blando y ligero. Puesto que el producto isoeléctrico es usualmente neutralizado con hidróxido de sodio, este producto tiene un contenido de sodio moderado lo cual debe tomarse en cuenta para las dietas de sodio. A todos los productos se les ha removido el azúcar involucrado con el factor de flatulencia.

Como se señaló anteriormente, el CPS tiene poco sino es que ninguno de los azúcares presentes en el factor de flatulencia. Por esta razón y por otras, puede ser usado más ampliamente en cualquier país.

Una desventaja en los productos cárnicos, es el efecto que la extensión tiene en el sabor el cual es diferente del que se observa para harina de soya y sémola. En este caso es un efecto de dilución. El sabor de la carne se diluye con el aditivo CPS hidratado. Esto hace necesario para el procesador compensar la pérdida del sabor añadiendo algún saborizante a la formulación.

#### Aislado de Proteína de Soya

El aislado de proteína de soya (APS) es el siguiente producto de más alto grado de proteína. El producto tiene un mínimo de proteína básica libre de humedad del 90%. Frecuentemente el nivel de proteína es aún mayor. Se obtiene por un proceso de deshidratación a partir de hojuelas de alto índice de nitrógeno soluble (INS). En algunos procesos el agua puede ser ligeramente alcalina para mejo-

rar la extracción. El extracto resultante o como a veces es llamado, el licor, es separado a partir de hojuelas.

Dependiendo de modificaciones menores en los pasos del procesamiento, el aislado puede tener muchas propiedades funcionales diferentes.

Es de interés señalar una de las propiedades funcionales, la gelación. Si un aislado especial es disperso en agua y calentado bajo condiciones apropiadas, la dispersión se gelatinizará.

La condición especial involucra temperatura alta hasta 65°C. Geles independientes pueden ser producidos en concentraciones de 12% o más. Mientras más alta la concentración, será más firme el gel.

Generalmente, estos geles altamente concentrados no se funden a las temperaturas ordinarias de los procesamientos alimentarios. Bajas concentraciones son más susceptible al calor ya que los geles pueden disolverse por calentamiento elevado.

Los aislados se emplean extensamente en los sistemas alimenticios por sus propiedades funcionales. Enlazan partículas, emulsificacan grasas, retienen agua o jugos de carne. Para funcionar adecuadamente en los sistemas cárnicos es necesario que el aislado tenga suficiente agua. Por estas razones su uso no es recomendable en un sistema cárnico de agua restringida, como es el caso en ciertos embutidos

Se ha encontrado que algunos aislados de proteína de soya tie

nen propiedades de atracción por la miosina, actuando en conjunción con la miosina de la carne para emulsificar grasas y otras partículas durante el proceso de elaboración de embutidos. Después de la cocción en el ahumador, la proteína es desnaturalizada fijándose en los materiales emulsificados.

Debido a que los aislados son atraídos por la miosina es preferible adicionar el aislado al tiempo en que éste pueda combinarse con ella añadiendo el hielo y la sal a la carne magra. Para mejorar los resultados es aconsejable agregar agua si esto no es restricción legal. Esto permite al aislado funcionar al máximo.

#### Proteína de Soya Texturizada

Como se apuntó antes, en cada una de las proteínas discutidas hay ciertas ventajas y desventajas en su uso. Una desventaja en todas es la textura como se aplica a ciertos sistemas de alimentos tal como podría ser en carne picada.

Hay varias formas de obtener la textura deseada, tales como la producción de fibras hiladas, geles de chicles, etc., el proceso más ampliamente empleado para obtener la textura es el cocimiento por extrusión de hojuelas desgrasadas, soya y/o concentrados.

En el caso de sabores añadidos, los sabores volátiles no se añaden al producto antes del proceso de extrusión sino después. Puede haber variaciones en el proceso. Los productos pueden producirse con o sin calentamiento y con o sin sabor. La mayo-

ría de los productos producidos hoy en día son sin sabor, coloreados o con el color natural.

Aunque la mayoría de las texturas de la proteína de soya son del tipo expandido hay algunas que tienen una textura compacta.

## CAPITULO 4

### VALOR NUTRICIONAL DE LAS PROTEINAS DE SOYA Y FACTORES ANTINUTRICIO

#### NALES DE LA SOYA

Entre las oleaginosas la soya tiene una posición prominente; no solamente por su alto contenido de proteína (30-45%) sino también porque cuando se procesa correctamente es de buena calidad nutricional. Los primeros informes sobre la composición aminoácida de la soya (Circle, 1950; Kuppuswamy et al., 1958; Aykroyd y Doughty, 1964) derivaron principalmente de los ensayos microbiológicos. Con la introducción de la cromatografía de intercambio iónico y técnicas automáticas para la determinación de aminoácidos (Spackman et al, 1958), se han obtenido datos mucho más precisos y confiables del contenido de aminoácidos de la soya y sus productos. La composición esencial de aminoácidos de una gran variedad de productos de soya se muestra en la Tabla 4. La composición aminoácida de muchas variedades diferentes de soya se han comparado particularmente con respecto a la metionina, el aminoácido limitante de la proteína de la soya; pero se han encontrado pocas diferencias significativas.

En la Figura 1, se muestra una comparación del patrón de aminoácidos de la proteína de soya con el de la FAO (1965), el patrón de aminoácidos se basó en la composición de la proteína del huevo ente

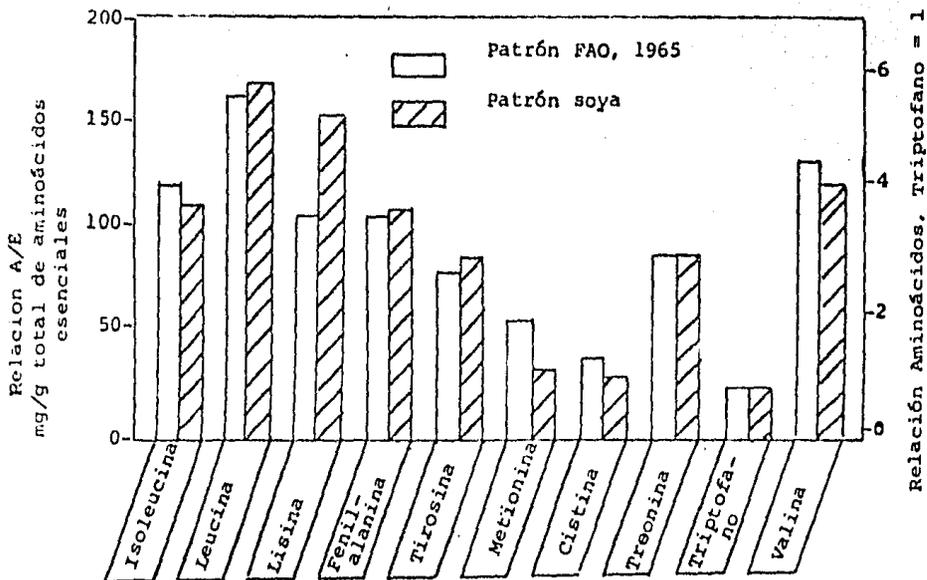
TABLA 4

## COMPOSICION DE AMINOACIDOS ESENCIALES DE VARIOS PRODUCTOS DE SOYA

FUENTE DE PRO TEINA DE SOYA	CONTENIDO <sup>1</sup> PROTEINA (%)	AMINOACIDOS ESENCIALES <sup>2</sup> (g / 16 g de N)											
		Ile	Leu	Lis	Met	Cis	Met+ Cis	Fen	Tir	Fen + Tir	Tre	Tri	Val
Grano de soya entera (Chippewa)	34.3	4.2	7.4	6.4	1.1	...	2.3	4.5	...	...	3.6	1.7	4.3
Alimento completo desgrasado y des- casarado.	52.6	4.4	7.2	5.4	1.2	0.8	2.0	4.6	3.4	8.0	3.6	1.3	4.0
Soya completa des- grasada.	44.7	4.8	7.0	6.1	1.3	2.1	3.4	4.6	3.0	7.6	4.7	1.8	5.3
Harina completa sin desgrasar	46.6	4.8	7.8	6.5	1.4	1.6	3.0	5.1	3.9	9.0	4.2	...	5.0
Harina desgrasada	59.0	4.6	7.7	6.2	1.3	1.2	2.5	5.3	...	...	4.2	1.4	4.9
Concentrado	71.0	4.9	8.0	6.6	1.3	1.6	2.9	5.3	3.7	9.1	4.3	1.4	5.0
Aislado	96.0	4.6	7.6	5.4	1.2	0.8	2.0	5.5	3.6	9.1	3.5	...	4.0
Aislado	90.0	5.0	7.9	6.3	1.1	1.0	2.1	5.5	3.8	9.3	3.7	1.3	5.2
Alimento análogo mixto	56.0	3.3	5.1	3.2	0.9	1.0	1.9	4.0	3.1	7.1	2.5	...	3.2
Germinados	50.4	5.0	8.4	7.0	1.0	0.4	1.4	4.0	3.3	7.3	5.8	2.3	5.6

1.- Base húmedo

2.- Las abreviaturas usadas son: Ile, isoleucina; Leu, leucina; Lis, lisina; Met, metionina; Cis, cistina; Fen, fenilalanina; Tir, tirosina; Tre, treonina; Tri, triptofano; Val, valina



(Tomado de Van Etten et al., 1967)

FIG. 1. PATRON DE AMINOACIDOS ESENCIALES DE PROTEINA DE SOYA .  
COMPARADO CON LA PROTEINA COMPLETA DE HUEVO.

.. Histidina (no aparece en la Figura) es requerida para una dieta esencial en infantes. Arginina es requerida para un máximo desarrollo, (A/E = relación aminoácidos totales/aminoácidos esenciales).

TABLA 5

VALOR NUTRICIONAL DE ALGUNOS ALIMENTOS PROTEINICOS REPRESENTATIVOS  
BASADOS SOBRE EVALUACION BIOLOGICA EN ANIMALES

Fuente de proteína	PER	Valor		Aminoácido	Cómputo
		Biológico	NPU	Limitante	Químico
<b>FUENTE ANIMAL</b>					
Huevo completo	3.8	87 - 97	91 - 94	no	100
Leche de vaca	2.5	85 - 90	86	S	60
Músculo de vaca	3.2	76	71 - 76	S	80
Salmón	...	72	71	TRIPTOFANO	75
<b>FUENTE VEGETAL</b>					
Soya	0.7.- 1.8	58 - 69	48 - 61	S	69
Cacahuete	1.7	56	43 - 54	S	70
Semilla de algodón	1.3 - 2.1	62	56 - 58	S	80
Arroz	1.9	75	70	LISINA	57
Maíz	1.2	60	49 - 55	LISINA	55
Trigo	1.0	52	52	LISINA	57

FUENTE: Datos compilados a partir de Altschul (1965) y FAO (1965).

La letra "S" indica contenido de azufre en aminoácidos totales.

ro. Puede apreciarse una correspondencia estrecha entre estos dos patrones con la excepción de los 2 aminoácidos que contienen azufre, cistina y metionina los cuales son más bajos en la proteína de soya. La extensión a la cual una proteína provee un aminoácido limitante en comparación con una proteína de referencia tal como proteína de huevo entero, es referido como el cómputo químico de aquella proteína. En el método original propuesto por Mitchell y Block (1946) las concentraciones de aminoácidos se expresan como gramos por 16 gramos de N, considerado por la FAO/WHO 1965. El aminoácido esencial se calcula como miligramos por gramo del total de aminoácidos esenciales. Este cálculo todavía permanece como el método de elección en 1973 para una evaluación rápida de la calidad proteínica.

Por comparación el cómputo químico de otras proteínas son presentados en la Tabla 5.

La proteína de soya equivale en eficiencia al 70% de la proteína del huevo. Desafortunadamente este método simple de evaluación de la calidad de la proteína presenta algunas limitaciones se veras las cuales son particularmente evidentes en el caso de la so ya.

## Técnicas Biológicas en Animales

El cómputo químico se refiere a la cantidad de aminoácidos que pueden ser recobrados en un hidrolizado ácido de proteínas, su poniendo que el animal puede utilizarlos. Esta suposición no toma en cuenta un número de factores que pueden alterar la viabilidad fisiológica de un aminoácido tales como: (1) La digestión de la proteína, esto es, la extensión a la cual los aminoácidos son liberados a partir de la proteína por el aparato digestivo del animal; (2) el momento en el cual los aminoácidos pueden ser absorbidos desde el tracto gastrointestinal; y (3) las interacciones complejas con otros nutrientes los cuales pueden estar afectando (1) y (2).

Idealmente, cualquier respuesta que el nutriólogo obtiene debería ser directamente aplicable al hombre. Los experimentos con humanos son complicados, tardados y costosos, y el nutriólogo debe apoyarse en las interpretaciones extrapoladas de los datos obtenidos por experimentación en animales. Los requerimientos humanos de aminoácidos son comparables con los de la rata, particularmente si uno compara los requerimientos de un animal de rápido crecimiento con los de un humano adulto, pero un niño no crece en porcentaje comparable a las ratas. A pesar de esto, las experiencias muestran que la evaluación de proteínas basada en estudios en animales pueden ser de valor en nutrición humana. Alguno de los variados proce

dimientos usados para la evaluación biológica del valor nutritivo de proteínas pueden encontrarse en publicaciones de la Academia Nacional de Ciencias de Estados Unidos (1959,1963) y FAO (1965, 1973).

#### Razón de la Eficiencia Proteínica (PER o REP)

El PER, primero propuesto por Osborne y Mendel en 1917, es una de las técnicas más usadas para la evaluación biológica de la calidad proteínica, definida como la ganancia de peso de un animal (rata) dividida por la cantidad de producto proteínico ingerido. Cuando se practica bajo condiciones estandarizadas, suele producir resultados exactos y reproducibles empleando a la caseína como control, con PER de 2.5 generalmente. El valor PER de la proteína de soya en relación a otras fuentes de proteína se presenta en la Tabla 6. La soya y los productos de soya pueden exhibir variaciones considerables en valores PER dependiendo de las condiciones de procesamiento del grano.

Balace de Nitrógeno.-El valor nutritivo de una proteína puede ser evaluado en términos de su propiedad para proveer aminoácidos para la síntesis o reemplazamiento de tejidos. Esto puede determinarse convenientemente en el animal íntegro por comparación de la cantidad de N ingerido (NI) y el excretado en la orina (O) y heces, (H). La diferencia entre estos dos valores, referido como balance de N (B), indica si el animal ganó, perdió o mantuvo sus recursos de nitrógeno:

TABLA 6

EVALUACION BIOLOGICA DEL VALOR NUTRITIVO DE LOS PRODUCTOS DE SOYA  
 DETERMINADA EN ALIMENTACION EXPERIMENTAL PARA RATAS

FUENTE DE PROTEINA	INTERVALO	PROMEDIO	INTERVALO	PROMEDIO	INTERVALO	PROMEDIO
<u>SOYA COMPLETA</u>						
Madura cruda		1.1		49		88
cocida en autoclave		2.0				
enredada cruda		0.5		69		85
enredada cocida en autoclave		1.5				
Madura cruda	0. -1.6(25)	0.7	41-74(14)	58	75-89(13)	82
madura seca por calentamiento	0.4-1.1( 5)	0.7				
madura vaporizada	1.2-1.4(6 )	1.3			90-94( 3)	92
madura cocida en autoclave	0.4-2.0(20)	1.3	64-67( 4)	64	83-94( 4)	90
germinado, crudo		1.4				
germinado, autoclave		1.9				
Cáscara tostada		2.4				
Alimentos extraídos por solventes						
no cocido	0.3-0.6( .6)	0.5	50-53( 2)	52	67-81( 2)	74
cocido en autoclave	1.1-2.9(21)	1.9	61-68( 2)	65		84
Alimento extruido						
Marina desgrasada	1.5-2.4(13)	1.8	60-75( 5)	69	82-96( 6)	89
grasa espesa		1.6				
Extrusión-cocción		2.0				
Leche	1.6-2.3( 7)	2.0		79		91
<u>Proteína concentrada</u>						
sin calentamiento	0.3-2.5( 5)	1.4				
con calentamiento		1.7				
Proteína Aislada	0.6-1.9( 6)	1.3				
Mezcla de análogos de la carne		2.3		65		92

Los valores de PER han sido corregidos sobre las bases de un PER de 2.5 de la caseína

Los números de los paréntesis se refieren al número de observaciones las cuales han estado en el intervalo de los valores presentados.

FUENTE: Soybeans; Chemistry & Technology. Volume 1. Ed: A.K. Smith.

$$B = NI - (H + O)$$

Si el nitrógeno ingerido es mayor que la cantidad de N excretado ( $NI > H + O$ ) el animal retuvo N y se dice que está en un estado de balance de N positivo. Si el nitrógeno ingerido es menor que el excretado, el animal es perdedor de N y está en un estado de balance de N negativo. Si el nitrógeno producido es igual al nitrógeno excretado el animal conserva el N en equilibrio. Esto depende del aprovechamiento de una distribución de los aminoácidos esenciales en la dieta. Una dieta deficiente en uno o más aminoácidos esenciales no permite un empleo eficiente de N, de aquí que una parte del N dietético se pierda en la orina y heces, es decir, hay un balance negativo de nitrógeno.

A causa de su simplicidad, la técnica de balance de N, puede ser efectivamente aplicada a estudios en humanos. El uso de animales permite un refinamiento más amplio en el cual una prueba permite distinguir entre las fracciones de nitrógeno dietético el cual no es digerido o absorbido y aquella fracción que es absorbida y retenida. La digestibilidad de una proteína (D) se define como el porcentaje de N que es absorbido y está dada por la ecuación:

$$D = \frac{I - (H - H_0)}{I} \times 100$$

$H_0$  es la cantidad de N presente en las heces, (a veces llamado ni-

trógeno metabólico o nitrógeno fecal endógeno). El porcentaje de N absorbido o retenido por el animal se denomina valor biológico (VB) y está dado por la expresión:

$$VB = \frac{N \text{ retenido}}{N \text{ absorbido}} \times 100 = \frac{I - (H - H_0) - (O - NU)}{I - (H - H_0)} \times 100$$

El nuevo término NU se refiere al nitrógeno urinario de origen metabólico.

Tanto el valor de digestibilidad como el biológico pueden ser combinados y dar un valor simple llamado utilización neta de proteína (NPU o UNP) el cual es simplemente  $D \times VB$ . El NPU puede calcularse directamente combinando las dos expresiones para D y VB:

$$NPU = \frac{I - (H - H_0) - (O - NU)}{I} \times 100$$

#### Experimentos en Humanos.-

En teoría al menos, los métodos de crecimiento tanto como las técnicas de balance de nitrógeno pueden llevarse a cabo en humanos aunque con mayor dificultad técnica y permiten la medida de parámetros bioquímicos que proveen datos suplementarios valiosos, tales como cambios en los patrones de las proteínas y aminoácidos en la sangre, excreción urinaria de creatinina y azufre, etc.

La medición del crecimiento de los niños en relación al consumo de proteína es análogo a la del PER en animales. El nivel de proteína en la dieta debe ser cuidadosamente seleccionado debido a que con altos consumos de proteína, mucha de ella no puede ser usa

da en procesos de síntesis sino que es metabolizada y excretada. Deben suministrarse suficientes calorías en la dieta para prevenir la desviación de proteínas hacia la producción de energía. Esto es particularmente importante en estudios de nutrición en el campo donde los alimentos ricos en proteína son frecuentemente consumidos bajo condiciones en las cuales los niños están sufriendo deficiencias en calorías tanto como en proteínas.

Los estudios de balance de nitrógeno en humanos se han empleado por muchos años por los nutriólogos, para evaluar el valor nutricional de las proteínas. Los estudios clásicos de Rose y colaboradores (Rose, 1949, 1957) establecieron los requerimientos del hombre de aminoácidos esenciales y estuvieron basados en experimentos de balance de N en adultos. La técnica es relativamente simple debido a que incluye la determinación de nitrógeno en alimento, orina y heces. De estos datos el balance de nitrógeno, el valor biológico, digestibilidad y el NPU, pueden ser rápidamente calculados de la misma manera que se describió para los animales. El principal problema es el hecho de que no es práctico corregir los valores del nitrógeno fecal y urinario por niveles endógenos.

Mendel y Fine (1911 - 1912) hicieron la observación de que la soya produce un balance positivo de N en el humano. Desde entonces un número considerable de estudios de balance de N han confirmado este hecho. Los resultados de la evaluación biológica de diversos

productos de soya se muestran en la Tabla 7, comparados con otros productos.

#### Disponibilidad de los Aminoácidos.

Reconociendo el hecho de que la composición aminoácida de una proteína no siempre revela la extensión a la cual un aminoácido particular puede estar disponible o utilizado por el animal se han hecho intentos para determinar la disponibilidad de aminoácidos, a partir de proteína de soya. Una de estas técnicas incluye el uso de dieta basal deficiente en un aminoácido particular y luego compara la ganancia en peso de un grupo de animales que han recibido, la dieta basal mas la proteína de prueba y otro grupo alimentado con la dieta basal enriquecida con niveles graduados del aminoácido ausente. Los datos relacionados con la disponibilidad de algunos de los aminoácidos de la soya para la rata y pollos según este método estan sumariamente presentados en la Tabla 8.

Lisina Disponible.- Las pruebas empleadas más frecuentemente para la medición de posibles efectos dañinos del tratamiento térmico sobre las propiedades nutricionales de la proteína de soya es la "lisina disponible o reactiva". Basados en la suposición razonable de que solo las moléculas de lisina que tienen grupos  $\epsilon$ -amino libres son biológicamente aprovechables, Carpenter, y asociados (Carpenter y Ellinger, 1955; Carpenter, 1958, 1960) han desarrollado un método químico para la medición de la lisina reactiva, basa-

TABLA 7

EVALUACION BIOLOGICA DE PRODUCTOS ALIMENTICIOS DE SOYA BASADOS EN

EXPERIMENTOS CON SUJETOS HUMANOS

FUENTE DE PROTEINA	INTERVALO	PROTEINA DE SOYA		REFERENCIAS
		PROME DIO	INTERVALO	
Semilla completa	95-97(2)	96	90-91(2)	91 Cahill et al. (1944); Smith (1944)
Harina de soya - desgrasada	61-92(4)	81	88-94(5)	92 Cahill et al. (1944); Smith (1944); Bricker et al. (1949); Murlin et al. (1946); DeMaeyer and Vanderbought (1961)
Harina de soya - grasa espesa		64		84 Parthasarathy et al. (1964 A B)
Lo mismo más metionina		75		86
Leche de soya	83-95(4)	91	80-97(6)	89 Cahill et al. (1944); Smith (1944); Desikachar et al. (1948); DeMaeyer and Vanderbought (1961).
Proteína aislada	60-81(3)	71	81-89(2)	85 Murlin et al. (1944); Suplee et al. (1946); DeMaeyer and Vanderbought (1961)
Mezcla de alimento		81		92 Bressani et al. (1967)

-- Los números en el paréntesis se refieren al número de observaciones, las cuales son incluidas en el intervalo de valores presentados.

-- FUENTE: Soybeans; Chemistry & Technology. Volume 1. Ed; A. K. Smith.

TABLA 8

APROVECHAMIENTO DE AMINOACIDOS ESENCIALES A PARTIR DE PROTEINA DE SOYA EN EXPERIMENTACION ANIMAL

AMINOACIDO	FUENTE PROTEINA DE SOYA	ANIMAL-PESTIGO	APROVECHAMIENTO (%)
Isoleucina	Alimento	Pollo	65
	Aislada	Rata	80-88
Leucina	Alimento	Pollo	88
	Hojuelas sin ca- lentar	Rata	49
	Alimento	Rata	76
	Cáscara	Rata	80
	Alimento	Pollo	98
	Aislada	Pollo	71
	Aislada	Rata	92
Fenilalanina	Alimento	Pollo	100
Metionina	Hojuelas sin ca- lentar	Rata	44
	Alimento	Rata	71
	Cáscara	Rata	74
	Alimento	Pollo	100
Metionina - Cis- tina	Hojuelas sin ca- lentar	Pollo	65
	Alimento	Pollo	100
	Aislada	Pollo	69
Treonina	Alimento	Pollo	100
Triptofano	Hojuelas sin ca- lentar	Pollo	93
	Hojuelas sin ca- lentar	Rata	100
	Alimento	Pollo	100
	Aislada	Pollo	87
	Aislada	Rata	87
Valina	Alimento	Pollo	52

do en la reacción de 1-Fluoro-2,4dinitrobenceno (FDNB) con el grupo amino libre de una proteína intacta; la  $\epsilon$ -dinitrofenil (DNP) lisina es producida por hidrólisis ácida de la proteína, se mide colorimétricamente y representa el aumento de lisina fisiológicamente aprovechable.

Ureasa.- Caskey y Knapp, (1944) encontraron que el tratamiento térmico requerido para producir un mejoramiento nutricional del aceite de soya es el mismo que el necesario para inactivar la enzima ureasa. Un estudio más extenso de Bird et al., (1947) confirmó que los alimentos de bajo valor nutritivo a causa de inadecuado calentamiento generalmente dan una prueba de ureasa positiva. Borchers et al., (1947) observaron que la ureasa es más sensible a la inactivación por calor que el inhibidor de tripsina y por lo tanto satisfactoria para averiguar el efecto del tratamiento térmico. La prueba de la ureasa es de poco valor para detectar alimentos sobre calentados (Borchers et al., 1947; Balloun et al., 1953).

Técnicas Enzimáticas y Microbiológicas.-Debido a que el valor nutritivo de las proteínas depende grandemente del grado de digestibilidad por el tracto gastrointestinal se han desarrollado técnicas que intentan duplicar in vitro los procesos digestivos del animal monogástrico. Se ha demostrado que el efecto benéfico en la calidad nutritiva de la proteína de la soya ejercido por el tratamiento térmico se acompaña de un incremento de los aminoácidos li-

berados in vitro como consecuencia de la destrucción del inhibidor de tripsina (Liener y Fevold 1949).

Dado que algunos microorganismos requieren los mismos aminoácidos que los animales para su crecimiento y metabolismo, se han desarrollado técnicas para estimar el valor nutritivo de una proteína mediante la respuesta del crecimiento de un microorganismo particular. En algunos casos la proteína intacta es degradada por enzimas proteolíticas elaboradas por el mismo microorganismo; en otros casos la digestión preliminar es afectada por adición de proteínasas purificadas. De esta manera el protozoo Tetrahymena pyriformis y diversas bacterias han sido empleadas para este fin (Anderson y Williams, 1951; Terri et al. 1956; Ford 1962).

#### SIGNIFICADO NUTRICIONAL DE OTROS CONSTITUYENTES DE LA SOYA

Aunque la principal contribución de la soya a la nutrición del hombre radica en la cantidad y calidad de proteína que contenga, se deben considerar sin embargo otros de sus constituyentes que pueden tener importancia nutricional, por ejemplo, aceites y carbohidratos pueden satisfacer los requisitos de calorías de poblaciones desnutridas.

Los carbohidratos están presentes en cantidades variables en muchas proporciones de proteínas de soya (Wolf et al., 1966), pero solo ha sido demostrado que las hémaglutininas (Lis et al., 1966 B) y globulinas 7S (Koshiyama 1969 A) son glicoproteínas.

Carbohidratos no ligados covalentemente han sido aislados también a partir de las proteínas de soya (Smiley y Smith, 1946). Nash et al., (1967), removi6 3.6% del peso de globulinas de soya por extracción alcoh6lica e identific6 saponinas y glicosida de citosterol en el extracto. Otros componentes en el extracto alcoh6lico fueron fosfatidil colina, fosfatidil etanolamina, genisten, triglic6ridos y algunos compuestos no identificados.

Adem6s de los fosfatos, la prote6na de soya tambi6n contiene compuestos fosforados. El fitato es el principal contaminante de las globulinas preparadas por precipitaci6n isoel6ctrica (McKinney et al., 1949; Smith y Rackis, 1957).

Un producto que contiene cerca de 70% de prote6na puede producirse removiendo la mayor6a de los constituyentes no nitrogenados de la hojuela de soya o harina por extracci6n con alcohol et6lico, 6cido diluido, o con agua seguida de desnaturalizaci6n con calor. Adem6s de este alto contenido de prote6na tal producto estar6a libre de sabores y olores indeseables y tendr6a las propiedades funcionales que lo hacen adecuado para usarse en una variedad de productos comestibles.

## FACTORES ANTINUTRICIONALES DE LA SOYA

Inhibidor de la tripsina.-La medición de actividad inhibidora de la tripsina se usa frecuentemente para la adecuación del tratamiento térmico de los productos de soya. El valor nutritivo de las harinas de soya parcialmente calentadas es inversamente proporcional a su contenido de inhibidor de tripsina. Aunque la actividad de ésta puede reflejar la cantidad de tratamiento térmico que una muestra dada de proteína de soya puede haber recibido, no debe tomarse en cuenta como un índice infalible de la calidad nutritiva de la proteína. (Sambeth et al., 1967; Kakade et al., 1972).

En la soya como en otras leguminosas se encuentran inhibidores de las proteasas, en las partes comestibles de estas plantas. Estas substancias sonm sobre todo, inhibidores de la tripsina. En la soya hay inhibidores de la plastina y también de la tromboplastina. Hay por lo menos 5 y hasta 6 substancias inhibidoras, la primero de las cuales fué aislada y perfectamente estudiada por Kunitz (Liener y Pallansch, 1952). Se trata de una cadena polipeptídica de 200 aminoácidos, con un peso molecular de 21,000. La secuencia de los aminoácidos ha sido aclarada en parte. Posee dos enlaces disulfuro que son esenciales para su actividad, ya que cuando disminuyen, la substancia se vuelve completamente inactiva.

El inhibidor de Kunitz neutraliza aproximadamente su mismo pe

so de tripsina. Dado que la tripsina tiene un peso molecular de 24,000 puede decirse que un mol de inhibidor inactiva un mol de tripsina. La reacción in vitro de las sustancias puras es sumamente rápida, en 4 segundos ha sido ligada la mitad de la molécula (Green, 1957). El complejo se disocia únicamente cuando el pH es inferior a 2.9. Se trata de una inhibición competitiva. El N-benzil-L-arginin-etilester disocia el complejo tripsina-inhibidor de Kunitz (Metais et al., 1963; Green, 1953). Las experiencias de este tipo se han hecho sobre todo con tripsina de vacuno, pero son también válidas para la tripsina de pavo. El primer paso de la interacción entre el inhibidor y la tripsina consiste en la ruptura del enlace arginina-isoleucina que se encuentra entre los dos puentes disulfuro del inhibidor (Fikenstadt y Laskowski Jr, 1965; Ozawa y Laskowski Jr, 1966). Aparentemente se forma una unión ester entre el resto de serina de la porción activa de la molécula de tripsina y el carbono terminal que acaba de aparecer en el resto de arginina del inhibidor.

En la soya se presentan por lo menos otros inhibidores de la tripsina distintos del inhibidor de Kunitz. Uno de ellos es el inhibidor de Bowman-Birk, de gran actividad antitriptica y que inhibe también a la quimiotripsina; su peso molecular asciende a 20,400 y tiene 17 puentes disulfuro, lo que corresponde a un contenido en cistina del 17%. Es muy resistente al calor, ácidos, ál

calis, pepsina y papaína. La reducción de los puentes disulfuro hace desaparecer su actividad. Rackis y colaboradores (Rackis et al, 1963; Rackis, 1965), demostraron que la hipertrofia pancreática que aparece en la rata al cabo de 9 días de alimentación con semillas crudas de soya es atribuible a los inhibidores de la tripsina. Debido al gran interés de la harina de soya como fuente de proteína, y a causa de su alto contenido en inhibidores de las proteasas se han hecho diversos ensayos en animales de experimentación sobre su influencia en el crecimiento y su valor proteínico. Los resultados obtenidos son contradictorios, de forma que todavía no es posible hacerse una idea clara. Se ha demostrado que la adición de metionina o de cistina al pienso de soya crudo hace aumentar el coeficiente de utilización proteínico en el mismo grado que el calentamiento. En las aves, la absorción de aminoácidos, es menor cuando se administra pienso de soya crudo que cuando se le ha sometido a calefacción. En la rata no se aprecia ninguna diferencia. Sin embargo en la rata la absorción por la porción terminal del intestino delgado es el doble cuando se administra soya calentada que cuando se administra soya cruda. Una gran parte del nitrógeno de la soya cruda atraviesa el intestino delgado sin ser absorbida, ya que la proteólisis es insuficiente. La absorción tiene lugar en parte en el intestino grueso con lo que disminuye su utilización para el crecimiento. Las

experiencias in vitro (Melnick, Oser y Weiss, 1946) demuestran que, especialmente, la liberación de metionina de la soya cruda está muy retardada, por lo que se absorbe después que los demás aminoácidos esenciales. Debido a ello, este aminoácido no se encuentra en el lugar requerido en el momento de la síntesis proteica. El inhibidor de la tripsina no entorpece solamente la liberación enzimática de la metionina, sino la de todos los aminoácidos. Las proteínas de pollo que contienen suficiente cantidad de lisina, arginina, isoleucina y triptofano al ser administradas en unión de harina de soya no proporcionan la cantidad esperada de estos aminoácidos. Por alimentación crónica con pienso de soya cruda se desarrolla en las ratas y en pollos una hipertrofia del páncreas que no se presenta en los cerdos ni en las terneras. También los inhibidores de Kunitz y Bowman-Birk, en estado puro, provocan hipertrofia del páncreas. Esta hipertrofia se explica como un intento de la glándula para compensar la pérdida de actividad de sus principales proteasas. Las enzimas pancreáticas son ricas en cistina, lo que explica la gran cantidad de ésta que se encuentra en el intestino delgado de las ratas alimentadas con dieta de soya. La cistina se obtiene sobre todo a partir de la metionina y a ello se debe la relativa carencia de metionina para la síntesis de proteína corporal. Las exigencias de metionina para el crecimiento se hacen comprensibles. Por lo tanto, el inhi

bidor de la tripsina puede afectar a la pérdida de nitrógeno en dos formas distintas. Por un lado induce la síntesis excesiva de proteasas en el páncreas, con lo que el organismo pierde cantidades considerables de cistina por destrucción bacteriana en el intestino. Por otro lado, el aumento de la síntesis pancreática no es siempre suficiente y puede perderse nitrógeno porque la hidrólisis de proteína en el intestino sea completa.

Además la soya tiene sustancias que retardan el crecimiento. Los inhibidores de las proteasas son solamente responsables del 30-60% de esta acción. Borchers (Borchers, 1965), aisló y purificó la sustancia digiriendo con papaína la fracción hidrosoluble de la semilla de soya. Se trata de un factor termoestable, dializable y que carece de acción sobre la tripsina. La acción del inhibidor sobre el crecimiento se suprime por adición de treonina y valina.

Mediante calentamiento apropiado puede destruirse el efecto de los principales inhibidores de las proteasas o al menos disminuirlo en gran parte. De esta forma se ha hecho posible utilizar la soya para la alimentación. El grado de destrucción de los inhibidores depende de la temperatura, de la duración del calentamiento, del volumen del alimento y de su contenido en agua. El inhibidor de la tripsina se destruye sometiéndolo a la acción del vapor durante 15 minutos cuando la humedad es del 20% y si el conteni-

do de humedad es mayor basta con 5 minutos al vapor. También si se pone en agua durante la noche y se hierve después durante 5 minutos se destruye.

La proteína de soya disminuye la utilización del zinc, manganeso, hierro y cobre (Kratzer, 1965), aunque el tratamiento térmico elimina este efecto. La proteína de soya forma un complejo con la fitina, formandose un quelato con los metales antes dichos.

### Saponinas

Las saponinas son glucósidos formados por sapogenina y diversos azúcares. La sapogenina es un esteroide o un triterpeno. Los azúcares son pentosas, especialmente d- y l-arabinosa, d-xilosa, l-ramosa y quinovosa. Hay también hexosas como d-glucosa y d-galactosa, y ácidos d-glucurónico y d-galacturónico. Las saponinas disminuyen la tensión superficial y forman complejos con las proteínas y con los lipoides, por ejemplo el colesterol. Debido sobre todo a su reacción con los lipoides, la membrana de los eritrocitos se hace permeable permitiendo la salida del pigmento sanguíneo.

La semilla de soya contiene 5 saponinas distintas, cuyas geninas se conocen como soyasapogenol A, B, C, D y E (Smith et al., 1958; Willner, 1964). El contenido en saponinas de la semilla de soya es aproximadamente del 0.5% y su efecto es igualmente espumante y fuertemente hemolítico, así como el inhibir inespecífica-

mente la colinesterasa y la quimotripsina. No obstante, la adición al alimento de ratones, ratas y gallinas, del 0.5 - 3% de extractos que contienen saponinas (que representa una concentración triple de la de una dieta con 50% de semillas de soya) no tiene ningún efecto retardante sobre el crecimiento. Los concentrados de saponina pierden gran parte de su actividad hemolítica (el 40%) por calentamiento (Willner, et al., 1964). La saponina de la soya no se absorbe en el intestino, donde es escindida por las bacterias en azúcares y genina, que tampoco se absorbe. La colinesterasa y la quimotripsina se inhiben inespecíficamente, pero este efecto inhibitorio es impedido por una proteína que se encuentra en la semilla de soya y la acción hemolítica es disminuida por la seroalbumina. Por lo tanto las saponinas de la semilla de soya son inofensivas.

### Nitratos

Muchas plantas, entre ellas la soya, almacenan nitratos en sus tallos y hojas; especialmente cuando han sido abundantemente abonados con estas sales (Kuhlen, 1962). En general, el que las verduras contengan mucho nitrato no tiene importancia para el hombre, a no ser que se trate de lactantes, pero la reducción a nitritos por las bacterias intestinales (Kübler, 1958) da lugar a la aparición de hemiglobina, con la que se impide la función respiratoria de los eritrocitos. Los lactantes en el primer tri-

mestres poseen bastante hemoglobina fetal que se oxida a hemiglobina a doble velocidad que la hemoglobina del adulto. El sistema enzimático que reduce nuevamente la hemoglobina a hemoglobina (hemiglobinreductasa y  $\text{NADH}_2$ ) es menos activo en los lactantes que en los adultos, de forma que se puede producir una intoxicación grave (Schaper, 1958).

#### Acción antivitaminica A; acción antivitaminica D

La semilla de soya contiene la enzima lipoxidasa, que oxidan a los carotenos inactivándolos. Cuando una tercera parte o más del alimento de las terneras consiste en semillas de soya cruda desciende el contenido de plasma en caroteno y vitamina A (Shaw, Moore, y Sykes, 1951). El calentamiento de las semillas a  $100^\circ\text{C}$  durante 30 minutos no disminuye la acción antivitaminica (Ellmore y Shaw, 1954).

Las semillas de soya crudas contienen un factor que puede provocar el raquitismo en las gallinas (Carlson et al., 1964). Este efecto puede ser contrarrestado, en parte, aumentando la dosis de vitamina  $\text{D}_3$ , así como calentando a  $100^\circ\text{C}$  durante una hora. El calentamiento es incluso más activo que la administración de la vitamina. El calentamiento eleva también la calcemia más que la vitamina  $\text{D}_3$ . Por lo tanto es posible que no se trate de una acción antivitaminica sino que la proteína de la semilla de soya impida la absorción de calcio y fósforo.

### Alergias

Se han observado casos de alergia a la soya. El contenido antigénico de las distintas partes de las plantas, hojas, semillas, raíz, es muy variable. El grado de madurez ejerce también influencia. El antígeno de la soya es muy resistente al calor.

### Hemaglutininas de Soya

La soya calentada causa un mejor crecimiento que la cruda cuando se alimentan experimentalmente ratas o pollos. Este hecho conocido por más de 50 años apunta a la existencia de factores tóxicos lábiles al calor. Por supuesto, está bien establecido que varias enzimas inhibidoras y hemaglutininas se pueden hallar en la soya pero sus correspondientes efectos sobre el valor nutricional son aún discutibles.

Una fitohemaglutinina ha sido estudiada extensamente por Liener y sus colaboradores (Liener y Pallansch, 1952) aislaron una proteína de soya que aglutinó células sanguíneas de conejo en diluciones altas. Esta hemaglutinina particular, aunque mostró ser homogénea por criterios diversos, es aparentemente solo una de por lo menos cuatro hemaglutininas subsecuentemente presentadas por separación cromatográfica presentes en la soya. (Lis et al., 1966). Todas estas proteínas parecen ser completamente similares en composición y propiedades físicoquímicas. La cantidad de hemaglutininas presentes en proteína de soya ha sido estimada por mé-

todos inmunoquímicos en alrededor de 3% por Liener y Rose. (Liener y Rose, 1953).

Cuando las aglutininas de soya aisladas fueron inyectadas en ratas, la  $DL_{50}$  mostró ser del orden de 50 mg/Kg, (Liener y Pallansch, 1952) indicando una toxicidad relativamente alta comparada a la de la aglutinina ingerida oralmente. Se dió en una dieta experimental para ratas a nivel de 1%; la hemaglutinina deprimió el crecimiento a cerca del 75% de lo normal, pero no se observaron efectos letales (Liener, 1953). La ingestión oral de soya cruda o preparados de fracciones proteínicas de ésta no demostraron tener un efecto letal sobre algún animal de la especie testigo. La aglutinina aislada fue dada pro vía estomacal a ratas en cantidades de 500mg/Kg sin que produjera la muerte de los animales. (Liener y Rose, 1953).

La baja toxicidad de la aglutinina de soya cuando es dada oralmente, comparada con su alta toxicidad cuando es inyectada es notable. La  $DL_{50}$  de la hemaglutinina del frijol negro (*Phaseolus vulgaris*), (Jaffe, 1960) cuando es inyectada, es similar a la aglutinina de soya. Dietas conteniendo frijol crudo o la administración oral de la aglutinina de éste causa pérdida de peso y muerte en ratas. (Honovar et al., 1962). Diferente susceptibilidad a la digestión podría posiblemente explicarse por la inactivación de la aglutinina de la soya por la pepsina (Liener, 1958);

la aglutinina (Jaffe y Hannig, 1965) es relativamente resistente a la enzima y la acción hemaglutinante se puede detectar en las heces de las ratas después de la ingestión de frijoles crudos (Jaffe y Vega Lette, 1968).

Una porción de la aglutinina de la soya puede sin embargo resistir la digestión gástrica, lo cual puede contar para su toxicidad oral moderada. Este aspecto del problema requiere más investigaciones.

La soya no calentada aumenta los requerimientos de los animales por ciertas vitaminas, minerales y otros nutrientes comparado con la proteína de soya calentada. Aunque no se sabe nada acerca de la naturaleza exacta de los factores responsables, sus puntos de labilidad por el calor se deben a su naturaleza proteínica.

Las ratas alimentadas con una dieta conteniendo frijoles de soya crudos desarrollaron grandes glándulas tiroideas (Sharpless, Pearsons y Proto, 1939). Este efecto se puede controlar por ebullición o por adición de yodo a la dieta (Block et al., 1961). Algunos investigadores han reportado casos de bocio en niños alimentados con leche de soya (Vanwyk et al 1959; Hydpwitz, 1960). La pérdida fecal de tirosina fue observada en ratas alimentadas con granos de soya crudos, lo cual puede atribuirse al hecho de la reabsorción de la tirosina en el intestino, donde ha sido excretada por vía biliar. (Beck, 1958).

La absorción reducida de aminoácidos a través de la pared intestinal pudo ser observada en ratas alimentadas con granos de soya crudos. (De Muelenaere, 1964). La baja absorción de grasa debida a la presencia de fracciones de granos de soya crudos en una dieta experimental ha sido descrita de la misma manera (Nesheim, 1962). Este efecto puede estar relacionado con el aumento de ácidos biliares en la excreción fecal en pollos alimentados con una dieta de soya cruda. Hay evidencias de requerimientos aumentados de las vitaminas solubles en grasa, A (Shaw et al., 1951), B (Carlson et al, 1964) y K (Balloun y Johnson, 1953), en animales alimentados con soya cruda; por ejemplo. pavitos con severo raquitismo cuando son alimentados con una ración de proteína de soya, aunque la dieta contenga niveles adecuados de vitamina D<sub>3</sub> o al reemplazar la proteína de soya no calentada, por soya calentada (Carlson et al., 1964). De igual manera, la proteína de soya no calentada incrementa los requerimientos de vitamina D<sub>2</sub> en lechones (Miller et al., 1965).

El mayor requerimiento de vitamina K en pollos alimentados con soya no calentada (Balloun y Johnson, 1953) se atribuye al uso de tricloro-etileno en el procedimiento de extracción (Griminger et al., 1959). La cantidad de vitamina B<sub>12</sub> que soporta el crecimiento normal en animales es insuficiente cuando la dieta contiene soya no calentada (Frolich, 1954). Resultados recientes parecen ex-

cluir este tipo de explicaciones por no ser suficientemente claras (Edelstein y Guggenheim, 1970).

Según De Muelenaere, (1964) existe la posibilidad de que las fracciones de este inhibidor puedan contener hemaglutininas y otras proteínas (Eldridge et al, 1966) que complican el asunto.

La existencia de otros factores tóxicos lábiles no identificados ha sido sugerida por Stead et al (1966) debido a que encontraron que dos de las fracciones de la proteína separada por cromatografía en celulosa DEAE era tóxica cuando se inyectaba a las ratas. Solamente una de ellas, sin embargo, tuvo actividad hemaglutinante significativa cuando se probó con sangre de conejo. Después de la extracción de las proteínas solubles a partir de la harina de soya, el residuo no era capaz de determinar crecimiento normal si no era sometido a tratamiento térmico (Gertler, 1967). Un factor no identificado, depresor del crecimiento, puede ser liberado por digestión con papaína (Borchers, 1963).

Por otra parte, la destrucción de la hemaglutinina en la soya es paralela al mejoramiento del valor nutritivo, como consecuencia del tratamiento térmico (Liener y Hill, 1953). Se ha descrito un procedimiento fotométrico para medir la actividad hemaglutinante de los extractos de soya (Liener, 1955).

Ningún otro alimento tiene tantos efectos antinutricionales como la soya (Mickelson y Yang, 1966). ¿Esto se debe a que esta le

guminosa es excepcionalmente rica en diferentes tóxicos lábiles al calor o a que ningún otro alimento ha sido probado tan exhaustivamente? Si la última alternativa es cierta pueden esperarse muchos más tóxicos no reconocidos en alimentos que no han recibido un estudio tan detallado.

## CAPITULO 5

### CONCENTRADOS Y AISLADOS PROTEINICOS COMERCIALES DE SOYA

En 1960 algunos concentrados de proteína de soya aparecieron en el mercado. Uno de ellos se prepara por lixiviación de alcohol acuoso de hojuelas desgrasadas (Meyer, 1966). Este concentrado ha sido un éxito comercial y continúa fabricándose. El concentrado es usado como extensor de carne, como producto de repostería y en algunas otras aplicaciones de alimentos.

Los datos disponibles en la literatura indican la posibilidad de preparar productos de soya de calidad alimenticia mejorada a partir de hojuelas lavadas en alcohol. Las hojuelas de soya se pueden preparar por extracción con hexano (Belter et al., 1954; Mustakas et al, 1962) seguido por un procedimiento de lavado en alcohol (Mustakas et al, 1961).

Otra alternativa es extraer las hojuelas directamente con alcohol acuoso (Beckel et al, 1946-1948). Después del proceso de extracción los alimentos son procesados por procedimientos normales obteniéndose un rendimiento de 25% sobre las hojuelas iniciales (Belter et al, 1944).

Sobre la base de la composición aminoácida de los concentrados de proteína de soya podría no esperarse que su valor nutritivo fuera muy diferente del de la harina de soya. Longenecker et al,

(1964) señalaron variaciones considerables en los valores PER de un número de concentrados de proteína de soya comerciales no calentados. Sin embargo, cuando se someten a tratamiento térmico (105°C por 30 minutos), los valores se acercan a los obtenidos en la harina de la soya. Los autores concluyeron de estas observaciones que debe haber marcadas diferencias en los procesos de manufactura de los concentrados de la soya, de manera que el tratamiento térmico óptimo no siempre es aplicado. Meyer (1966) por otro lado, no pudo demostrar ningún mejoramiento por calor en el valor nutritivo de algunos productos comerciales examinados.

#### Proteínas Aisladas ("Aislados de Soya")

El valor nutritivo de las proteínas aisladas ("aislados de soya") recibió atención desde 1912 cuando Osborne y Mendel hallaron que la proteína principal de la soya tenía alrededor de 2/3 del valor de la caseína que induce el crecimiento. Muchos años después De y Ganguly (1947) señalaron que el PER de esta proteína era aproximadamente el mismo que el de la soya sometida a autoclave. La mayoría de los estudios nutricionales más recientes se han realizado con proteína de soya aislada por extracción de hojuelas o harinas a un pH alcalino, seguida de precipitación a pH ácido. Dichas preparaciones consisten casi exclusivamente de proteína (93-95%). Los datos relativos a la evaluación nutricional de las proteínas aisladas de la soya en animales y humanos han demostrado un valor PER o

VB aproximadamente de 65-85% respecto a la caseína.

El enriquecimiento con metionina eleva su valor nutritivo respecto a la caseína cuando se ensaya con ratas (Huge, 1961) o en cerdos recién nacidos (Schneider y Sarett, 1969).

Algunos investigadores (Longenecker et al., 1964; Bressani et al., 1967; Cogan et al., 1968) han reportado que el valor nutritivo de la proteína aislada de la soya puede mejorarse por tratamiento térmico mientras que otros (Booth, 1961; Meyer, 1966) no han notado dicho efecto. La explicación más obvia de esta discrepancia sería que la técnica empleada para el aislamiento de la proteína de la soya no siempre comienza con la eliminación de los inhibidores del crecimiento de características termolábiles

La extracción alcalina bajo condiciones más drásticas puede dar un producto inferior, no por la falta de eliminación de los inhibidores del crecimiento, sino por el daño a ciertos aminoácidos; por ejemplo a la cistina, la cual está acompañada por la formación de lisinoalanina producida por la interacción de la hidroalanina que es un producto de descomposición de cistina y serina y de los grupos  $\epsilon$ -amino de lisina (De Groot y Slump, 1969).

Uso en alimentos infantiles.- El uso de los "aislados de soya" en la formulación de "leches" para infantes ha recibido atención en los últimos años. Cherry et al, (1968) compararon las propiedades nutricionales de una "leche" con 2.3% de "aislado de soya" y

una fórmula similar en la cual la proteína era derivada de leche desnatada en una concentración equivalente de proteína. Usando el criterio de ganancia de peso, niveles de suero de proteína, aminoácidos y colesterol, así como otros datos hematológicos, estos autores encontraron que el crecimiento fue algo mejor con la fórmula de la leche desnatada aunque los datos bioquímicos y hematológicos fueron similares. Bates et al, (1968) apuntaron posteriormente que el comportamiento inferior de la fórmula con soya podría deberse a la deficiencia en metionina. Cuando la fórmula fue fortificada con metionina, no apreciaron ninguna diferencia significativa. Experimentos con cerdos pequeños han demostrado también que la fórmula con metionina es de hecho superior. (Schneider y Sarett, 1969).

En México también se han hecho estudios buscando abatir la desnutrición que el país presenta (2/3 de la población). La Fundación de Estudios Alimentarios y Nutricionales, A. C. y Productos Alimenticios Delicias, S.A. de C.V. localizados en Chihuahua, México, han desarrollado una fórmula infantil nutritiva de bajo costo ("Soyaven") basada en una mezcla de soya y avena que es nutricionalmente equivalente a las fórmulas comerciales basadas en leche (Del Valle et al., 1981).

"Soyavén" también sirve como suplemento de la leche en infantes que por alguna razón no toleran la leche.

La soya y avena en la formulación proporcionan proteínas,

grasas y carbohidratos además se adiciona aceite de cártamo como fuente adicional de grasa y ácidos grasos esenciales y sacarosa como fuente adicional de carbohidratos. DL-metionina es adicionada basándose en las recomendaciones para formulaciones infantiles por la FAO/WHO; vitaminas y minerales se adicionan y sabor a leche para mayor aceptación por los niños (Tablas 9 y 10).

La fórmula "Soyaven" fue dada a infantes de 3-24 meses de edad desnutridos y se observó en la mayoría de los casos que fué bien tolerada y que presentaron una ganancia en peso. (Mermelstein, 1983).

Uso en alimentos texturizados. - Uno de los usos más prometidos de los "aislados de soya" es en la formulación de alimentos texturizados o análogos de la carne (Irmiter 1964; Thulin y Kuramoto, 1967; Kiratsous, 1969). En éstos procedimientos el aislado se disuelve o suspende en álcali y luego se extrae con ácido o en baño ácido para formar fibras que puedan ser manipuladas para dar productos simulando la textura y sabor de una amplia variedad de carnes. Tales productos contienen en promedio 25% de proteína base húmeda o cerca de 50% en base seca (Koury y Hodges, 1968).

La composición aminoácida de alimentos texturizados no es muy diferente de la de la proteína de la soya de la cual es obtenida. Bressani et al. (1967) han hecho un estudio de la calidad de la proteína de soya texturizada usando ratas, perros y niños. De es-

TABLA 9

FORMULACION DE SOYAVEN

---

Soya descascarada	32.1%
Avena perlada	25.6%
Sacarosa	34.1%
Aceite vegetal	5.8%
Fosfato tricálcico	1.2%
NaCl	0.5%
DL-metionina	0.2%
Vitaminas y minerales	0.4%
Saborizante	0.1%

---

TABLA 10

ANÁLISIS DE NUTRIENTES DE SOYAVEN (por 100g)

---

Proteínas (N X 6.25)	17.0 g
Grasas	14.5 g
Carbohidratos	61.7 g
Kcal	398
Vitamina A	1,800 IU
Vitamina D	300 IU
Vitamina E	4 IU
Vitamina B-1	" 0.45 mg
Vitamina B-2	0.70 mg
Vitamina B-6	0.30 mg
Vitamina B-12	1 µg
Vitamina C	45 mg
Niacina	5 mg
Calcio	425 mg
Fósforo	345 mg
Hierro	12.6 mg

---

tos estudios los autores concluyeron que el valor nutritivo de los alimentos texturizados era equivalente al de la proteína de la carne y aproximadamente al 80% del de la caseína. Fué rápidamente aceptada por los niños y no produjo ningún efecto fisiológico adverso.

Koury y Hodges (1968) encontraron que los alimentos texturizados de la soya son muy aceptables para pacientes hospitalizados y no hospitalizados; mediciones clínicas bioquímicas confirmaron el mantenimiento de una buena salud.

El enriquecimiento de harina de trigo con proteína aisladas de soya ha probado igualmente ser una forma muy efectiva de mejorar el valor nutritivo del pan (Howard et al., 1958; Ericson et al., 1961; Jansen y Ehlel, 1965; Mizrahi et al, 1967).

También hay datos experimentales que demuestran que la harina de soya puede ser usada para mejorar la calidad nutricional de otros alimentos cocinados conteniendo proteína de trigo. (Reynolds y Hall, 1950; Hayward y Diser, 1961; Carlson et al, 1947).

Enriquecimiento del maíz.- La proteína de la soya tiene un efecto enriquecedor del valor nutritivo del maíz particularmente en la proporción de 40% de proteína de maíz y 60% de proteína de soya (Bressani y Marengo, 1963).

De 17 mezclas de proteínas vegetales fabricadas para usarse en países en desarrollo, 11 de ellas contienen harina de soya como

uno de los ingredientes (Orr y Adair, 1967). Aparte de los méritos nutritivos la preferencia por la harina de soya se debe probablemente al hecho de que hay mucha experiencia en relación a los términos de procesamiento para propósitos comestibles, que cualquier otra oleaginosa.

Las tortillas hechas de maíz tratado con cal más 10% de harina de soya dan un PER de 1.8 comparado con solamente 1.0 del maíz sin enriquecer (Cravioto et al., 1950).

Se han hecho considerables esfuerzos en formular mezclas de proteína de soya con otras proteínas vegetales. Estas mezclas, cuando son debidamente fortificadas con vitaminas y minerales tienen gran potencial para la alimentación de niños y adolescentes en las áreas en desarrollo en el mundo. Científicos del Central Food Technological Institute (CFTI) en la India por ejemplo han trabajado activamente en el desarrollo de mezclas en la cual la proteína de la soya se usa para enriquecer la proteína de los cacahuates y leguminosas. En el Instituto de Nutrición de América Central y Panamá (INCAP) en Guatemala, el maíz y la semilla de algodón se han usado junto con proteína de soya. Tales mezclas son fortificadas con vitaminas y minerales y en algunos casos con aminoácidos esenciales para asegurar un consumo adecuado de estos nutrientes. La evaluación biológica de alguna de estas mezclas, en términos del PER determinado con ratas se presenta en la Tabla 11. Debe notarse

TABLA 11

## VALOR NUTRITIVO DE SUPLEMENTOS DE SOYA RICOS EN PROTEINA

Fuente de Proteína	Proporción de mezcla (% en peso)	Número de ensayos	PER	Bibliografía
Harina de maíz/soya Incaparina 14	58/38	26	2.6	Bressani (1966)
Harina de maíz/soya 0.2% de metionina	58/38	26	2.9	" "
Harina de maíz/soya 0.2% metionina 0.2% tronina 0.2% lisina	58/38	26	3.4	" "
Maíz/harina de soya gra- sa espesa, extraída por coacción	43/40	21	2.5	Smith (1969)
Trigo/harina de soya (63B)	73/20	23	2.1	Senti (1969)
Trigo/harina de soya	40/60		2.6	Parpia (1969)
Trigo/harina de soya + metionina	40/60		3.0	" "
Proteína aislada de ca- cahuate/harina de soya con grasa	50/50	26	2.3	Korula et al. (1964A) Shurpalekar et al. (1964A, B, C)
Lo anterior más metioni- na	50/50	26		
Harina de cacahuate/hari- na de soya grasa + 1% metionina	50/50	50	2.5	Shurpalekar et al. (1964B)
Lo anterior + 1% lisina	50/50	49	2.8	Narayana Rao et al. (1964, 1965)
Leche desnatada en polvo 70/30 harina de soya	70/30	57	2.2	Prasanna et al. (1965)
Harina de cacahuate/hari- na de ajonjolí/harina de soya	48/20/30	16	2.3	Krishnomuthy et al. (1958)
Lo anterior	40/30/30	44	2.4	Panemangalore et al. (1967)
Lo anterior	40/20/40	54	2.4	Prasanna et al. (1968)
Maíz/leche desnatada/hari- na de soya (CSM)	64/5/24	19	2.5	Senti (1969)
Maíz/harina de semilla de algodón/harina de soya (In- caparina 15)	58/19/19	26	2.2	Bressani (1966)
Lo anterior + 0.2% metioni- na + 0.1% lisina	58/19/19	26	2.7	" "
Harina de cacahuate/hari- na de trigo/harina de soya	30/60/10		2.4	Parpia (1969)
Lo anterior + 1% metionin	30/60/10		2.5	" "
Trigo/ajonjolí/harina de soya	60/15/25		2.6	" "
Harina de cacahuate/coco harina de soya	30/30/40	42	2.3	Tasker et al. (1963A)

TABLA 11  
(continuación)

Harina cacahuete/har. ajonjolí/guisante/har. soya	30/10/30/30	26	18	Joseph et al. (1962)
Har. cacahuete/garbanzo de Bengala/har. de soya	48/25/25	16	1.7	Krishnamurthy et al. (1959)
Har. de ajonjolí/guisante harina de soya	35/47/18	38	2.9	Guggenheim and Szmelcman (1965)
Har. cacahuete/har. ajonjolí/garbanzo de Bengala/har. de soya	38/20/28/20	16	2.1	Krishnamurthy et al (1959)

Los valores PER han sido corregidos en base al PER de caseína o de leche descremada en polvo = 2.5

FUENTE: Soybeans; Chemistry & Technology. Volume 1. Ed. A. K. Smith.

que con alguna de estas mezclas particularmente las enriquecidas con metionina, los valores de PER se aproximan mucho al obtenido por la proteína de la leche.

Incaparina es el nombre genérico dado a una serie de mezclas de proteína vegetal desarrollado por INCAP. Originalmente la Incaparina fue una mezcla de harinas de maíz y de semilla de algodón, pero en algunas de las más recientes formulaciones, la harina de semilla de algodón, ha sido reemplazada total o parcialmente por harina de soya. La Incaparina 14 consiste de 59% de maíz, 38% de harina de soya tostada, 3% de levadura *Torula*, 1% de  $\text{CaCO}_3$  y 4500 IU de vitamina A por 100 gramos (Bressani, 1966, 1969). En la Incaparina 15, 1/2 de la harina de soya es reemplazada por harina de semilla de algodón. Estas mezclas pueden ser usadas directamente o preparar una bebida por simple adición de agua o pueden ser incorporadas en alimentos tales como sopas, pudines, galletas, alimentos infantiles precocidos, etc.

Si el maíz opaco 2 de elevada lisina se emplea para reemplazar el maíz común en las fórmulas 14 y 15 hay un incremento en la ganancia de peso y del valor PER (en ratas) en el caso de la fórmula 15 pero no en la fórmula 14 (Bressani y Elías, 1969).

Un suplemento alimenticio que contiene 19% de proteína derivada de una mezcla de 63.8% de alimento de maíz procesado, 24.2% de harina de soya desgrasada y tostada y 5% de NFDM desarrollado por

American Corn Miller Federation en cooperación con USDA (Dimler, 1967; Senti, 1969), referida como CSM, también contiene 5% de aceite de soya y es fortificada con 2% de una premezcla de vitaminas y minerales. La CSM puede servirse en forma de atoles o potajes para niños escolares o en asados, sopas y otras recetas.

Los experimentos en ratas indican que el CSM ha sido también empleado en un número de experimentos alimenticios con niños en varias partes del mundo.

Otros cereales y leguminosas.- A causa de la popularidad mundial del trigo, una formulación (WSB) comprendió una mezcla de harinas o concentrados proteínicos de soya con proteína de trigo (Senti, 1969), que consiste de 20% de harina de soya desgrasada, 73.4% de trigo, 4% de aceite de soya y 2.6% de vitaminas y minerales y el contenido final de proteína es de cerca de 20%, el PER es de 2.1.

Los resultados preliminares de las pruebas de alimentación se realizaron en niños en Perú.

Guggenheim y Szmelcman (1965) y Krishnamurty et al. (1959), utilizaron mezclas de soya con harina de ajonjolí y garbanzo (*Cicer arietinum*), (47% de garbanzo cocido en autoclave, 35% de harina de ajonjolí desgrasada y 18% de harina de soya desgrasada) con un alto valor nutritivo de acuerdo con un gran número de experimentos en ratas y niños.

TABLA 12

PROPORCIONES OPTIMAS DE TRES MEZCLAS DE COMPONENTES DE CEREALES CON HARINA DE SOYA

Mezcla Cereal-Soya	Proporción de mezcla (% en peso)	Contribución de proteína (%) <sup>1</sup>
Mijo-sorgo-harina de soya	21-59-20	15-33-52
Mijo-maíz-harina de soya	45-36-19	32-17-51
Mijo-trigo-harina de soya	33-52-15	25-35-40
Sorgo-maíz-harina de soya	78-00-22	44-00-56
Sorgo-trigo-harina de soya	41-40-19	24-27-50
Maíz-trigo-harina de soya	43-36-21	21-24-55

FUENTE: Inglett et al. (1969)

1.- El contenido de proteína final de la mezcla en algunos casos es 20%

TABLA 13

## COMPOSICION DE AMINOACIDOS Y VALOR NUTRITIVO DE VARIAS FRACCIONES DE SOYA

Mediciones	Alimento de soya	Frijol	Leche	Fracciones de soya				Proteína de suero		
				Residuo (Gramos por 16 g N)	Quajo					
Contenido de Proteína base seca (%)	61	(45)	--	(52)	52	(24)	102	(59)	101	(59)
Porcentaje de Proteína original	100 <sup>1</sup>	(100)	--	(83)	26	(14)	61	(74)	6	(9)
Isoleucina	5.1	(4.8)	5.3	(4.8)	6.0	(4.5)	5.0	(4.9)	5	(2.9)
Leucina	7.7	(7.8)	8.1	(7.9)	8.9	(8.0)	7.9	(8.0)	7.7	(4.0)
Lisina	6.9	(6.5)	6.7	(6.1)	6.1	(5.1)	5.7	(5.9)	8.7	(8.8)
Metionina	1.6	(1.4)	1.3	(1.4)	1.6	(1.0)	1.3	(1.4)	1.9	(2.2)
Cistina	1.6	(1.6)	1.4	(1.6)	0.7	(2.3)	1.0	(1.7)	1.8	(2.7)
S-AA Totales	3.2	(3.0)	2.8	(3.0)	2.3	(3.3)	2.3	(3.1)	3.7	(4.9)
Fenilalanina	5.0	(5.1)	5.6	(4.9)	5.2	(4.9)	5.9	(4.8)	4.5	(2.0)
Tirosina	3.9	(3.9)	4.4	(3.9)	3.3	(3.0)	4.6	(3.7)	4.7	(3.8)
AA-aromático total	8.9	(9.0)	10.0	(8.8)	8.5	(7.9)	10.5	(8.5)	9.2	(5.8)
Treonina	4.3	(4.2)	4.0	(3.9)	4.7	(4.1)	3.8	(3.7)	6.2	(5.2)
Triptofano	1.3	(1.3)	1.4	(1.4)	---	(1.6)	1.0	(1.1)	1.3	(1.8)
Valina	5.4	(5.0)	5.6	(4.8)	6.4	(5.0)	5.2	(4.7)	6.2	(3.2)
Cómputo Químico	73	(--)	--	(75)	54	(75)	54	(73)	87	(71)
PER <sup>2</sup>	0.85	(--)	--	(1.93)	1.67	(2.37)	1.53	(1.92)	1.95	(1.6)

FUENTE: Datos tomados de Rackis et al. (1961, 1963); Van Etten et al. (1959); Smith et al. (1964A); Hacker et al. (1963, 1967). Los valores han sido tomados de Hackler et al. (1963).

1.- Sin cáscara.

2.- Corregido a un valor de PER de 2.5 de cafeína. Los valores PER fueron tomados de Rackis et al. (1963) y son para fracciones las cuales no fueron calentadas.

Inglett et al. (1969) han desarrollado un método computarizado para predecir la combinación de proteínas vegetales para lograr un balance óptimo de aminoácidos esenciales, de tal manera que la combinación (por peso) de dos proteínas de cereales con harina de soya de un patrón aminoácido parecido al de la proteína de huevo entero. Las proporciones óptimas y la contribución de proteínas se muestran en la Tabla 12.

#### Otras Fracciones

El valor nutritivo de otras fracciones de proteína de soya (proteína %, aminoácidos y cómputo químico) han sido estudiadas detalladamente por varios investigadores (Rackis et al., 1961; Hacler et al. 1963, 1967). Y sus resultados se muestran en la Tabla 13. Los datos de composición aminoácida muestran que los aminoácidos azufrados son limitantes en todas las fracciones pero los resultados químicos basados en estos datos parecen ser de poco valor para predecir el valor nutritivo de las fracciones.

## CAPITULO 6

### RESUMEN Y CONCLUSIONES

La estructura primaria de la proteína de soya es poco conocida, treinta y nueve residuos de aminoácidos de un total de cerca de 200 son señalados actualmente y se espera que en un futuro cercano la secuencia completa sea precisada.

Solo una proteína correspondiente a la fracción 11S ha sido aislada, la globulina 11S, que puede considerarse la mayor proporción de la soya. Tiene un peso molecular de aproximadamente 350,000 y se piensa que presenta una estructura cuaternaria.

La información acerca de la estructura secundaria, terciaria y cuaternaria de las globulinas 7S, 11S y 15S es muy limitada. El inhibidor de tripsina se descubrió hace 25 años, sin embargo su estructura es prácticamente desconocida.

Se ha usado la electroforesis en el estudio de las globulinas de la soya sólo que presenta problemas ya que la solubilidad de las proteínas es baja en la región isoeléctrica. En el estudio de interacción de fitatos con globulinas de soya falta mucho por realizar, ya que el complejo fitato-proteína migra más lentamente que la proteína no complejada.

En su estructura subcelular la semilla de la soya contiene numerosas inclusiones subcelulares; las que guardan partículas de

proteína se denominan cuerpos proteínicos o aleuronas mientras que los depósitos de lípidos reciben el nombre de esferosomas; los cuerpos proteínicos han sido aislados por centrifugación diferencial, por extracción con hexano y centrifugación por densidad de gradiente de sacarosa. De los solventes empleados en la extracción de proteínas, agua y agua más álcali (pH 7-9) han resultado ser más eficientes.

Los métodos de fraccionamiento deben ser lo suficientemente suaves para mantener la estructura cuaternaria intacta; se han usado varias técnicas pero sólo dan separaciones parciales por lo que para la purificación se llevan a cabo técnicas que incluyen dos o más pasos.

Las globulinas son insolubles en la región isoeléctrica pero puede modificarse sensiblemente por adición de sales. Los fitatos deben eliminarse antes de intentar los estudios de solubilidad.

El sulfato de amonio a pH 7.6 permite la precipitación de más o menos 90% de pureza de la fracción 11S.

La proteína de la soya es sensible a los solventes orgánicos tales como alcoholes y acetona.

Las globulinas precipitadas con ácido pueden extraerse por incremento de concentraciones de cloruro de sodio.

La cromatografía con hidroxilapatita proporciona una separación completa de una porción de la fracción 2S, revela que la frac

ción 7S consiste de por lo menos 2 proteínas diferentes, se puede obtener las globulinas 7S y 11S con alto grado de pureza.

La desnaturalización de las proteínas por calentamiento puede resultar beneficiosa para la calidad de la proteína, un calentamiento adecuado la hace más digestible pero un sobrecalentamiento puede destruir algunos aminoácidos esenciales de la proteína o bien conducir a la formación de sustancias tóxicas.

La desnaturalización de las proteínas de soya por calor húmedo ha sido usado con gran éxito para eliminar factores antinutricionales, por inactivación de sustancias tóxicas de naturaleza proteínica, eleva los constituyentes proteínicos digeribles.

El efecto de alto y bajo pH en las proteínas consiste en una disociación de las moléculas posiblemente en sus subunidades por repulsión electrostática.

Las técnicas de inmunodifusión e inmunoelectroforesis han sido usadas en la caracterización de las proteínas de soya y permite la cuantificación de las proteínas 11S.

La proteína de soya ha sido usada en muchas aplicaciones alimenticias tomándose en cuenta una o más propiedades funcionales como: fortificaciones proteínicas, emulsificantes, reducción de calorías y control de textura, entre otras.

Sin embargo, respecto a las propiedades funcionales no se ha puesto el suficiente énfasis en este aspecto, a pesar de que es el

factor limitante en la aceptación o no del producto. Por consiguiente, sería de importancia observar los factores que afectan las características funcionales de las proteínas de soya ya que de ellas dependerá su amplia aceptación.

El concentrado de proteína de soya tiene un contenido de proteína más elevado que la harina y sémola, es de sabor suave y libre del factor flatulento; lavado con alcohol después de la extracción es más blando y ligero.

El aislado de proteína de soya es un producto de alto contenido de proteína (90% de proteína libre de humedad); se obtiene por un proceso de extracción acuosa usando hojuelas de alto índice de nitrógeno soluble, dependiendo del procesamiento; puede tener muchas propiedades funcionales diferentes. Es usada en procesamiento de sistemas alimenticios por sus propiedades: enlazante de partículas, emulsificador de grasas, retención de agua.

Una desventaja de la proteína de soya es la textura, como se aplica a ciertos sistemas de alimentos.

Hay un número de formas de obtener la textura deseada; el proceso más ampliamente empleado es el cocimiento durante la extrusión de hojuelas desgrasadas, soya y/o concentrados. El sabor se añade después de la extrusión.

La soya además de tener un alto contenido de proteína (30-45%), cuando se procesa correctamente tiene un alto valor nutricional.

Usando como patrón la proteína del huevo completo se pudo apreciar una correspondencia estrecha entre los aminoácidos con la excepción de cistina y metionina los cuales son más bajos en la proteína de soya. La proteína de soya equivale en eficiencia al 70% de la proteína del huevo.

La razón de eficiencia proteínica (PER ó REP) está definida como la ganancia en peso de un animal dividida por su ingesta de producto proteínico y es una de las técnicas más usadas en la evaluación biológica de la calidad proteínica. La soya y los productos de la soya pueden exhibir variaciones considerables en valores PER dependiendo de las condiciones del procedimiento de cocción a que son sometidos.

El balance de nitrógeno es una evaluación del valor nutritivo de una proteína en términos de su propiedad para proveer aminoácidos para la síntesis o reemplazamiento de tejidos. Mendel y Fine (1911-1912) han encontrado que la soya produce un balance positivo de N en el humano, y más tarde un número considerable de estudios de balance de N han confirmado este hecho.

Para determinar la disponibilidad de aminoácidos se han llevado a cabo diferentes técnicas entre las que se incluye el uso de dieta basal deficiente en un aminoácido particular y luego comparar la ganancia de peso de un grupo de animales que han recibido la dieta basal más la proteína de prueba y otro grupo alimentado con la

dieta basal enriquecida con niveles graduados del aminoácido ausente.

El tratamiento térmico es un buen método de elevar la calidad nutricional de varios productos proteínicos de soya como ha sido demostrado por la prueba de la ureasa, que confirmó que los alimentos de bajo valor nutritivo dan una prueba de ureasa positiva.

El valor nutritivo de las harinas de soya parcialmente calentadas es inversamente proporcional a su contenido de inhibidor de tripsina. La destrucción de la hemaglutinina en la soya es paralela al mejoramiento del valor nutritivo como consecuencia del tratamiento térmico.

Se han desarrollado técnicas para estimar el valor nutritivo de una proteína mediante la respuesta del crecimiento de un microorganismo particular.

Aunque la principal contribución de la soya a la nutrición del hombre radica en la cantidad y calidad de proteína, hay otros constituyentes de interés nutricional como los carbohidratos y aceites que están en cantidades variables.

La soya cruda presenta varios factores antinutricionales como son: hemaglutinina, inhibidores de la tripsina, inhibidor de Kunitz saponinas; pero todos estos factores son destruidos y pierden importancia antinutricional por la cocción de la soya a temperaturas normales (105°C por 30 minutos).

Desde hace algunos años, algunos concentrados de proteína de soya aparecieron en el mercado. El concentrado es usado como extensor de carne o en productos de repostería, etc.

Los aislados de soya consisten casi exclusivamente de proteína (93-95%) y se obtiene por extracción a un pH alcalino, seguida de precipitación a un pH ácido y la proteína principal tiene un valor PER ó VB aproximadamente de 65-85% respecto a la caseína. El enriquecimiento con metionina eleva su valor nutritivo.

Los aislados de soya se han usado en alimentos infantiles fortificados con metionina dando un valor nutricional superior.

La proteína de soya también ha sido usada en alimentos texturizados para dar productos simulando la textura y sabor de la carne que tiene un valor nutritivo equivalente al de la proteína de la carne y aproximadamente al 80% del de la caseína.

La harina de soya también puede ser usada para enriquecer la calidad nutricional de los cereales (trigo, maíz, etc.)

Se han hecho considerables esfuerzos en formular mezclas de proteínas vegetales. Estas mezclas cuando son debidamente fortificadas con vitaminas y minerales tienen un gran potencial para la alimentación de niños, adolescentes y ancianos en las áreas en desarrollo en el mundo.

En vista de que en el mundo existen áreas subdesarrolladas y una característica principal de éstas es la desnutrición de su popo

blación, diversas agrupaciones se han dedicado al estudio de la soya y de su valor nutritivo, lográndose grandes avances y encontrando que la soya bien procesada puede ser un buen sustituto o suplemento de diversos alimentos aumentando así la calidad nutricional de la dieta en humanos y con costo mucho más económico que lo que se pudiera hallar en otros alimentos.

Dado que para que la soya sea consumida y aceptada más ampliamente deberán mejorarse las características funcionales de sus productos y de ésta es necesario dedicar mayor importancia a su estudio.

## CAPITULO 7

### BIBLIOGRAFIA

- Acton, J. C.; Saffle, R.L. 1981. Emulsification. En "Protein Functionality in Foods". A.C.S. Symposium Series 147. Ed. John P. Cherry. Am. Chemical Soc., Washington, D. C. p. 1
- Aguilera, J. M. y Kosikowski, F. A. 1981. Propiedades de textura sólida. En "Protein Funtionality in Foods". A.C.S. Symposium Series 147. Ed. John P. Cherry. Am. Chemical Soc., Washington, D.C. p. 12.
- Anderson, R. H. y Link, K. D. 1975. Retention of water and fat in cooked patties of beef and of beef extended with textured vegetable protein. Food Technol., 29,44.
- Anderson, M. A. y Williams, H. H. 1951. Microbiological evaluation of protein quality. I. A colorimetric method for the determination of the growth of *Tetrahymena geleii* W in protein suspension. J. Nutr. 44, 335.
- Aoki, H. 1965. Studies on the gelation of soybean protein. II. On the fundamental factors affecting the gelation of soybean protein. J. Agr. Chem. Soc. Japan 39, 270.
- Aoki, H. 1965. Studies on the gelation of soybean protein. III. On the effect of alkaline salts. J. Agr. Chem. Soc. Japan 39, 262.
- Aoki, H. y Sakirai, M. 1969. Studies on the gelation of

soybean protein. V. On the effects of heat denaturation. J. Agr. Chem. Soc. Japan 43, 448.

Ayroyd, W. R. y Doughty, J. 1964. Legumes in human nutrition. FAO Nutr. Studies 19.

Balloun, S. L. y Johnson E. L. 1953. Anticoagulant properties of unheated soybean meal in chick diets. Arch. Biochem. Biophys. 42, 355.

Balloun, S. L., Johnson, E. L. y Arnold, L. K. 1953. Laboratory estimation of the nutritive value of soybean oil meals. Poultry Sci. 32, 517.

Bates, R. D., Barrett, W. W., Anderson, D. W. Jr. y Sapers tein, S. 1968. Milk and soy formulas: a comparative growth study. Ann. Allergy 26, 577.

Beauchat, L. R.; Cherry, J. P. y: Quinn, M. R. 1981. Fat attraction En "Protein Functionality in Foods", A.C.S. Symposium Serie 147 Ed. John P. Cherry. Am. Chemical So., Washington, D. C. p. 13

Beck, R. N. 1958 Soy flour and fecal thyroxine loss in rats. Endocrinology. 62, 587.

Beckel, A. C., Belter, P. A. y Smith, A. K. 1946. Laborato ry study of continuous vegetable oil extraction: Countercurrent extractor, rising-film evaporator and oil stripper. Ind. Eng. Chem. Anal. Ed. 18. 56.

Beckel, A. C., Belter, P. A. y Smith, A. K. 1948. The non-

distillation alcohol extraction process for soybean oil. J. Am. Oil. Chemists' Soc. 25, 10.

Beckel, A. C., Bull, W. C.  $\gamma$  Hopper, T. H. 1942. Heat denaturation of protein in soybean meal. Ind. Eng. Chem. 34, 973.

Belter, P. A., Beckel, A. C.  $\gamma$  Smith, A. K. 1944. Soybean protein production: Comparison of the use of alcohol-extracted with petroleum-ether-extracted flakes in a pilot plant. Ind. Eng. Chem. 36, 799.

Belter, P. A., Brekke, O. L., Walther, G. F.  $\gamma$  Smith, A. K. 1954. Flash desolventizing. J. Am. Oil Chemists Soc. 31, 401.

Belter, P. A.  $\gamma$  Smith, A. K. 1952. Protein denaturation in soybean meal during processing. J. Am. Oil Chemists Soc. 29, 170.

Berlin, E. P., Kliman, P. G., Pallansch, M. J. 1981. Water-Uptake En: Protein Functionality in Foods. A.C.S. Symposium Serie 147. Ed. John Cherry. Am. Chemical Soc. Houston, Texas, 12.

Berry, R. E., Bisset, O. W. Lastinger, J. C. 1965, Method for evaluating foams from citrus concentrates. Food Technol. 19, 1168.

Bils, R. F.  $\gamma$  Howell, R. W. 1963. Biochemical and cytological changes in developing soybean cotyledons. Crop. Sci. 3, 304.

Bird, H. R. et al. 1947. Urease activity and other chemical criteria as indicators of inadequate heating of soybean oil meal.

J. Assoc. Offic. Agr. Chemists 30, 354.

Birk, Y., Gertler, A. y Khalef, S. 1963. A pure trypsin inhibitor from soya beans. Biochem. J. 87, 281.

Block, R. J., Marel, R. H., Howard, H. W., Baver, C. D. y Anderson, D. M. 1961. The curative action of iodide on soybean goiter and the changes in the distribution of iodoamino acids in the serum and in thyroid gland digests. Arch. Biochem. Biophys. 93.

Booth, A. N. 1961. Physiological effects of feeding soybean meal and its fractions. Proc. Conf. Soybean Products for Protein in Human Foods, USDA, Peoria, III.

Borchers, R. 1963. Bound growth inhibitor in raw soybean meal. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 112, 84.

Borchers, R. 1965. Antibiotics and the anti-threonine effect of raw soybean meal. Life Sci. 4, 1835.

Borchers, R., Anderson, C. W. y Sandstedt, R. M. 1947. Trypsin inhibitor. III. Determination and heat destruction of the trypsin inhibitor of soybeans. Arch. Biochem. 12, 367.

Bowman, D. E. 1946. Differentiation of soybean antitryptic factors. Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 63, 547.

Bressani, R. 1966. Soybeans as a source of protein for human feedings in Latin America. Proc. Intern. Conf. Soybean Protein Foods, USDA, Peoria, III. ARS-71, 35.

Bressani, R. et al. 1967. Protein quality of a soybean protein

textured food in experimental animals and children. J. Nutr. 93,349.

Bressani, R. 1969. Formulation and testing of weaning and supplementary foods containing oil seed proteins. In Protein-Enriched Cereal Foods for World Needs, M. Milner (Editor). Am Assoc. Cereal Chemists' St. Paul.

Bressani, R. y Elías, L. G. 1969. Studies on the use of opaque-2 corn in vegetable protein rich foods. J. Agr. Food Chem. 17 659.

Bressani, R. y Marengo, E. 1963. The enrichment of lime-treated corn flour with proteins lysine and tryptophan and vitamins. J. Agr. Food Chem. 11, 517.

Briggs, D. R. y Mann, R. L. 1950. An electrophoretic analysis of soybean protein. Cereal Chem. 27. 243.

Briggs, D. R. y Wolf, W. J. 1957. Studies on the cold-insoluble fraction of the water-extractable soybean proteins. I. Polymerization of the 11S component through reactions of sulfhydryl groups to form disulfide bonds. Arch. Biochem. Biophys. 72, 127.

Brown, J. R., Lerman, N. y Bohak. Z. 1966. The amino acid sequences around the disulfide bonds of soybean trypsin inhibitor. Biochem. Biophys. Res. Commun. 23, 561.

Carlson, S. C., Herrman, E. C., Bohn, R. M. y Hayward, J. w. 1947. A nutritional study of the fortification of graham-type crackers with soy grits, calcium, and several vitamins. Cereal Chem. 24,

Carlson, C. W., Saxena, H. C., Jansen, L. S.  $\gamma$  Mc Ginnis, J.  
1964. Rachitogenic activity of soybean fractions. *J. Nutr.* 82, 507.

Carpenter, K. J. 1958. Chemical methods of evaluating protein quality. *Proc. Nutr. Soc. (Engl. Scot.)* 17, 91.

Carpenter, K. J. 1960. The estimation of available lysine in animal-protein foods. *Biochem. J.* 77, 604.

Carpenter, K. J.  $\gamma$  Ellinger, G. M. 1955. The estimation of available lysine in protein concentrates. *Biochem. J.* 61, xi.

Caskey, C. D., Jr.  $\gamma$  Knapp, F. C. 1944. Method for detecting inadequately heated soybean oil meal. *Ind. Eng. Chem. Anal.* 16, 640.

Catsimpoilas, N. 1969. Isolation of soybean lipoxidase by isoelectric focusing. *Arch. Biochem. Biophys.* 131, 185.

Catsimpoilas, N.  $\gamma$  Leuthner, E. 1969. Immunochemical methods for detection and quantitation of Kunitz soybean trypsin inhibitor. *Anal. Biochem.* 31, 437.

Catsimpoilas, N.  $\gamma$  Meyer, E. W. 1968. Immunochemical properties of the 11S component of soybean proteins. *Arch. Biochem. Biophys.* 125, 742.

Catsimpoilas, N.  $\gamma$  Meyer, E. W. 1969. Isolation of soybean hemagglutinin and demonstration of multiple forms by isoelectric focusing. *Arch. Biochem. Biophys.* 132, 279.

Catsimpoilas, N.  $\gamma$  Meyer, E. W. 1970. Gelation phenomena of

soybean globulins, I. Protein-protein interactions. Cereal Chem. 47, 559.

Catsimpoolas, N., Rogers, D. A. y Meyer, E. W. 1969. Immuno chemical and disc electrophoresis study of soybean trypsin inhibitor SBTIA-2. Cereal Chem. 46, 136.

Cherry, F. F., Cooper, M. D., Stewart, R. A. y Platou, R. V. 1968. Cow versus soy formulas. Am. J. Diseases Children 115, 677.

Circle, S. J. 1950. Proteins and other nitrogenous constituents. In Soybeans and Soybean Products, K. S. Markley (Editor). John Wiley & Sons, New York.

Cogan, U., Yaron, A., Berk, Z. y Zimmerman, G. 1968. Effect of processing conditions on nutritive value of isolated soybean proteins. J. Agr. Food Chem. 16, 196.

Cravioto, D. Y. et al. 1950. Comparison of the biological values of the protein of maize tortillas and tortillas made with maize and soybean flour. Ciencia (Mex.) 10, 145.

Cumming, D. B. Tung, M. A. 1980. Intermolecular interaction measurements. En "Protein Functionality in Foods" A.C.S. Symposium Serie 147. Ed. John, P. Cherry. Am. Chemical Soc. Houston, Tex: 14.

Danielsson, C. E. 1949. Seed globulins of the gramineae and leguminosae. Biochem. J. 44, 387.

De, S. S. y Ganguly, J. 1947. Heat treatment and the biological value of soybean protein. Nature 159, 341.

De Groot, A. P. y Slump, P. 1969. Effect of severe alkali treatment of proteins on amino acid composition and nutritive value J. Nutr. 98, 45.

De Muelenaere H. J. H. 1964. Studies on the digestion of soybeans. J. Nutr. 82, 197.

Del Valle, F. R.; Villanueva, H.; Reyes Govea, J.; Escobedo, M.; Bourges, H.; Ponce, J. y Muñoz, J. M. 1981. Development, evaluation and industrial production of a powdered soy-oats infant formula using a low-cost extruder. J. Food Sci., 46(1): 192.

Dimler, R. J. 1967. Soybeans and corn join forces in food. Soybean Dig. 27, 50.

Edelstein, S. y Guggenheim K. 1970. Causes of the increased requirement for vitamin B<sub>12</sub> in rats subsisting on an unheated soybean flour diet. J. Nutr. 100, 1377.

Eldidge, A. C. Anderson, R. L. y Wolf, W. J. 1966. Polyacrylamide-gel electrophoresis of soybean whey proteins and trypsin inhibitors. Arch. Biochem. Biophys. 115, 495.

Ellmore, M. F. Shaw, J. C. 1954. The effect of feeding soybeans on blood plasma, carotene and vitamin A of dairy calves. J. Dairy Sci. 37, 1269.

Ericson, L. E., Larson, S. y Lid, G. 1961. A comparison of the efficiencies of free lysine and of roller dried milk, fish protein, and soya, bean protein for the supplementation of wheat bread.

Acta Physiol. Scand. 53, 366.

Evans, L. G., Volpe, T. y Sabik, M. E. 1980. Intermolecular interaction measurements. "Protein Functionality in Foods" A.C.S. Symposium Serie 147. Ed. John P. Cherry. Am. Chemical Soc. Houston Tex. p 14.

FAO. 1965. Protein requeriments. Food Agr. Organ. UN. Nutr. Meeting Rept. Ser. 37.

Finkenstadt, W. R. y Laskowski M. Jr. 1965. Peptide bond cleavage on trypsin trypsin inhibitor complex formation. J. Biol. Chem. 240,962.

Finney, E. E. 1980. Matrix and film formation. En Protein Functionality in Foods. Symposium Serie 147. Ed. John P. Cherry. Am. Chemical Soc. Houston Tex. p. 14.

Fleming, S. E. y Sosulski, F. W. 1980. Intermolecular interaction measurements. En "Protein Functionality in Foods".. A.C.S. Symposium Serie 147 Ed. John P. Cherry. Am. Chemical Soc., Houston, Tex. p. 14

Fleming, S.E. Sosulski, F.W. Kilara, A. y Humbert, E.S. 1980. General methods of testing. En "Protein Functionality in Foods". A.C.S. Symposium Serie 147 Ed. John P. Cherry. Am. Chemical Soc. Houston, Tex. p. 11.

Ford, J. E. 1962. A microbiological method for assessing the nutritional value of proteins. 2. The measurement of "available" methionine, leucine, isoleucine, arginine, histidine, tryptophan and valine. Brit. J. Nutr. 16, 409.

Fridman, C., Lis, H., Sharon, N. y Katchalski, E. 1968. Isolation and characterization of soybean cytochrome C. Arch. Biochem. Biol.

phys. 126, 299.

Frolich, R. 1954. Relation between the quality of soybean oil meal and the requirements of vitamin B<sub>12</sub> for chicks. Nature 173, 132.

Fukushima, D. 1959. Studies on soybean protein I. Water dispersibility of protein of defatted soybean flour as a criterion for degree of denaturation. Bull. Agr. chem. Soc. Japan. 23, 7.

Fukushima, D. 1959. Studies on soybean proteins. II. A new method for quantitative determination of the degree of denaturation of protein in soybean flour. Bull. Agr. Chem. Soc. Japan. 23, 15.

Fukushima, D. 1968. Internal structure of 7S and 11S globulin molecules in soybean proteins. Cereal chem. 45, 203.

Fukushima, D. 1969. Denaturation of soybean proteins by organic solvents. Cereal Chem. 46, 156.

Gertler, A. y Birk, Y. 1965. Purification and characterization of a  $\beta$ -amylase from soya beans. Biochem. J. 95, 621.

Gertler, A., Birk, Y. y Bondi, A. 1967. A comparative study of the nutritional and physiological significance of pure soybean trypsin inhibitors and of ethanol-extracted soybean meals in chicks and rats. J. Nutr. 91, 358.

Green, N. M. 1953. Competition among trypsin inhibitors. J. Biol. Chem. 205, 535.

Green, N. M. 1957. Kinetics of the reaction between trypsin and the pancreatic trypsin inhibitor. Biochem. J. 66, 407.

Griminger, P., Morrison, W. D. y Scott, H. M. 1959. Effect of unheated soybean meal on blood coagulation of chicks. Poul. Sci. 35, 911.

Guggenheim, K., y Szmelcman, S. 1965. Protein-rich mixture based on vegetable food available in Middle Eastern Countries. J. Agr. Food Chem. 13, 148.

Hackler, L. R., Hand, D. B., Steinkraus, K. A., y Van Buren, J. B. 1963. A comparison of the nutritional value of protein from several soybean fractions. J. Nutr. 80, 205.

Hackler, L. R., y Stillings, B. R. 1967. Amino acid composition of heat-processed soymilk and its correlation with nutritive value. Cereal Chem. 44, 70.

Hayward, J. W., y Diser, G. M. 1961. Soybean protein as flour and grits for improving dietary standards in many parts of the world. Soybean Dig. (21) 10, 14.

Hermansson, A. M. 1979. Aggregation and denaturation involved in gel formation. In "Functionality and Protein Structure." ACS Symposium Series 92. Ed Four-El, A. Am. Chemical Soc., Washington, D. C. 81.

Honovar, P. M., Shih, C. V., and Liener, I. E. 1962. The inhibition of growth of rats by purified hemagglutinin fractions isolated from *Phaseolus vulgaris*. J. Nutr. 77, 109.

Howard, H. W., Monson, W. J., Bauer, C. D., and Block, R. J.

1958. Nutritive value of bread flour proteins as affected by practical supplementation with lactalbumin, non-fat dry milk solids, soyabean protein, wheat gluten, and lysine. J. Nutr. 64, 151.

Huang, F. y Rha, C.K. 1980. Matrix and film formation. En "Protein Functionality in Foods". A.C.S. Symposium Serie 147. Ed. John P Cherry. Am. Chemical Soc. Houston, Tex. pag. 14.

Huge, W. E., 1961. Oresent and potential uses of soybean flour, grits, and protein concentrates in foods. Proc. Conf. Soybean Products for Protein in Human Foods, USDA, Peoria III.

Hutton, C.W. y Campbell, A.M. 1980. General Methods of Testing. En "Protein Functionality in Foods". A.C.S. Symposium Serie 147. Ed. John P Cherry. Am. Chemical Soc. Houston, Tex. pag. 11.

Hydowtz J. D. 1960. Occurrence of goiter in an infant on a soy diet. N. Engl. J. Med. 262, 351.

Ikenaka, T., Shimada. K., y Matsushima, Y. 1963. The N-terminal amino acid sequence of soybean trypsin inhibitor. J. Biochem (Tokio) 54, 193.

Inglett, G. E., Cavins, J. F., Kwolek, W. F. y Wall, J. S. 1969. Using a computer to optimize cereal based food composition. Cereal Sci. Today 14, 69.

Irmiter, T. F. 1964. Foods from spun protein fibers. Nutr. Rev. 22, 33.

Jaffé, W. G. 1960. Über Phytotoxine und Bohnen, Arzneim. Forsch.

10, 1012.

Jaffé, W. G., y Hannig K. 1965. Fractionation of proteins from kidney beans (*Phaseolus vulgaris*). Arch. Biochem. Biophys. 109, 80.

Jaffé W. G., y Vega Lette C. L. 1968. Heat-labile growth inhibiting factors in beans (*Phaseolus vulgaris*). J. Nutr. 94, 203.

Jansen, G. R., y Ehle, S. R. 1965. Studies on breads supplemented with soy, non-fat dry milk, and lysine. Food Technol. 19, 1439.

Kakade, M. L., Simons, N. R., Liener, I. E., y Lambert, J. W. 1972. Biochemical and nutritional assessment of different varieties of soybeans. J. Agr. Food Chem. 20, 87.

Kelley, J. J., y Pressey, R. 1966. Studies with soybean protein and fiber formation. Cereal Chem. 43, 195.

Kinsella, J. E. 1980. Protein functionality. En "Protein Functionality in Foods" A.C.S. Symposium Serie 147. J.P. Cherry Am. Chem. Soc. Houston Tex p.1.

Kiratsous, A. S. 1969. Meat analoges and flavors Cereal Sci. Today 14, 147.

Klotz, I. M. 1967. Protein subunits. Science, 155, 697.

Koshiyama, I. 1969. Isolation of a glycopeptide from a 7S protein in soybean globulins. Arch. Biochem. Biophys. 130, 370.

Koury, S. D., y Hodges, R. E. 1968. Soybean proteins for human diets, Wholesomeness and acceptibility. J. Am. Dietet. Assoc. 52, 480

Kratzer, F. H. 1965. Soybean protein mineral interrelationships. Fed. Proc. 24, 1498.

Krishnamurty, K., Ganapathy, S. N., Swaminathan, M., y Subrahmanyan, V. 1959. Studies on the nutritive value of protein foods based on blends of groundnut, soyabean, bengal gran (*Cicer arietinum*) and sesame flour. Food Sci (Mysore) 8, 388.

Kunitz, M. 1948. The kinetics and thermodynamics of reversible denaturation of crystalline soybean trypsin inhibitor. J. Gen. Physiol. 32, 241.

Kuppuswamy, S., Srinivasa, M., y Subrahmanyan, V. 1958. Proteins in foods. Indian Council Med. Res., New Delhi, India.

Lenhinger, A. N. 1976. Las Bases Moleculares de la estructura y función celular. Bioquímica. Ed. Omega, S. A. Casanova, 220-Barcelona - 11. 57.

Liener, I. E. 1953. Soyin, a toxic protein from the soybean. I. Inhibition of rat growth. J. Nutr. 49, 527.

Liener, I. E. 1955. The photometric determination of the hemagglutinating activity of soyin and crude soybean extracts. Arch. Biochem. Biophys. 54, 223.

Liener, I. E. 1958. Inactivation studies on the soybean hemagglutinin. J. Biol. Chem. 233, 401.

Liener, I. E. y Hill, E. G. 1953. The effect of heat treatment on the nutritive value and hemagglutinating activity of soybean oil meal. J. Nutr. 49, 609.

Liener, I. E., y Fevold, H. L. 1949. The effect of the soybean

trypsin inhibitor on the enzymatic release of amino acids from autoclaved soybean meal. Arch. Biochem. Biophys. 21, 395.

Liener, I. E., y Pallansch, M. J. 1952. Purification of toxic substance from defatted soybean flour. J. Biol. Chem. 197, 29.

Liener, I. E., y Rose, J. E. 1953. Soyin, a toxic protein from the soybean. III. Immunochemical Properties. Proc. Soc. Exper. Biol. 83, 539.

Lis, H., Fidman, C., Sharon, N., y Katchalski, E. 1966. Multiple hemagglutinins in soybean. Arch. Biochem. Biophys. 117, 301.

Lis, H., Sharon, N., y Katchalski, E. 1966. Soybean hemagglutinin, a plant glycoprotein. I. Isolation of a glucopeptide. J. Biol. Chem. 241, 648.

Lis, H., Sharon, N., y Katchalski, E. 1966. Soybean hemagglutinin, a plant glycoprotein. I. Isolation of a glycopeptide. J. Biol. Chem. 241, 648.

Lis, H., Sharon, N., y Katchalski, E. 1969. Identification of the carbohydrate-protein linking group in soybean hemagglutinin. Biochem. Biophys. Acta 192, 364.

Longenecker, J. B., Martin, W. H., y Sarett, H. P. 1964. Protein quality improvement; improvement in the protein efficiency of soybean concentrates and isolates by heat treatment. J. Agr. Food Chem. 12, 411.

Matthews, R. H., Sharpe, E. J y Clark, W. M. 1980. Intermolecular

interaction measurements. En "Protein Functionality in Foods " . A.C.S. SYMposium. Serie 147. Ed John P Cherry. Am. Chemical Soc. Houston, Tex. p. 14.

McKenzie, H. A. 1967. Milk proteins. Advan. Protein Chem. 22, 55.

McKinney, L. L., Sollars, W. F. y Setzkorn, E. A. 1949. Studies on the preparation of soybean protein free from phosphorus. J. Biol Chem. 178, 117.

Melnick, D., Oser, B. L. y Weiss, S. 1946. Rate of enzymic digestion of proteins as a factor in nutrition. Science 103, 326.

Mendel, L., y Fine, M. S. 1911-1912. Studies in nutrition. IV The utilization of the proteins of the legumes. J. Biol. Chem. 10, 433.

Mermelstein, N. H. 1983. Soy-oats infant formula helps fight malnutrition in México. (Associate Editor) Food Technology. Vol 37, No. 8, p. 64.

Metais, P., Schirardin, H. y Warter, J. 1963. Antitrypsines et action esterasique trypsine. G. R. Soc. Biol. (Paris) 157, 2307.

Meyer, E. W. 1966. Soy protein concentrates and isolates. Proc. Intern. Conf. Soybean Protein Foods. USDA. Peoria, III. USDA-ARS 71, 35.

Mickelson, O. y Yang, M. G. 1966. Naturally occurring toxicants in foods. Fed. Proc. 25, 104.

Miller, E. R., Ulrey, D. E., Zutaut, C. L., Hoefler, J. A. y Luecke, R. L. 1965. Comparison of casein and soy proteins upon mineral balance and vitamin D<sub>2</sub> requirements of the baby pig. J. Nutr. 85, 347.

Miller, N. 1980. General Methods of Testing. En "Protein Functionality

in Foods". A.C.S. Symposium. Serie 147. Ed. John P. Cherry. Am. Chemical Soc. Houston Tex. p. 11.

Mitchell, H. H. y Block, R. J. 1946. Some relationships between the amino acid content of proteins and their nutritive values for the rat. J. Biol. Chem. 163. 599.

Mitsuda, H., Yasumoto, K., Yamamoto, A. y Kusano, T. 1967. Study on soybean lipoxigenase I. Preparation of crystalline enzyme and assay by polarographic method. Agr. Biol. Chem. (Tokyo) 31, 115.

Mizrahi, S., Zimmermann, G., Berk, Z. y Cogan, U. 1967. The use of isolated soybean protein in bread. Cereal Chem. 44, 193.

Mustakas, G. C., Kirk, L. D. y Griffin, E. L. Jr. 1961. Bland undernourished soybean flakes by alcohol washing and flash desolventizing. J. Am. Oil Chemists Soc. 38, 473.

Mustakas, G. C., Kirk, L. D. y Griffin, E. L. Jr. 1962. Flash desolventizing defatted soybean meals washed with aqueous alcohols to yield a high-protein product. J. Am. Oil Chemists Soc. 39, 222.

Nash, A. M., Kwolek, W. F. y Wolf, W. J. 1971. Denaturation of soybean proteins by isoelectric precipitation. Cereal Chem. 48, 360.

Nash, A.M. y Wolf, W.J. 1967. Solubility and ultracentrifugal studies on soybean globulins. Cereal Chem. 44, 183.

NATL. ACAD. SCI. 1959. Evaluation of protein nutrition. Natl. Res Council Publ. 111.

NATL. ACAD. SCI. 1961. Progress in meeting protein needs of infants

and preschool children. Natl. Res. Council Publ. 843.

NATL ACAD SCI 1963 Evaluation of protein quality. Natl. Res. Council 1100

Nesheim, M. C., Garlich, J. D., y Hopkins, D. T. 1962. Studies on the effect of raw soybean meal on fat absorption in young chicks. J. Nutr. 78, 89.

Okubo, K., Asano, M., Kimura, Y., y Shibasaki, K. 1969. On basic subunits dissociated from C (11S) component of soybean proteins with urea. Agr. Biol. Chem. (Tokyo) 33, 463.

Orr, E., y Adair, D. 1967. The production of protein foods and concentrates from oil seeds. Trop. Prod. Inst. Rept. G31, London.

Osborn, T. B., y Mendel, L. B. 1917. The use of soybean as food. J. Biol. Chem. 32, 369.

Ozawa, K. y Laskowski, M. Jr. 1966. The reactive site of trypsin inhibitors. J. Biol. Chem. 241, 3955.

Pour-El, A., y Swenson, T. S. Protein functionality in foods. Symposium. Serie 147. Ed. John P. Cherry. Am. Chemical Soc., Houston, Tex. 10.

Rackis, J. J. et al. 1961. Amino acids in soybean hulls and oil meal fractions. J. Agr. Food Chem. 9, 409.

Rackis, J. J. 1965. Physiological properties of soybean trypsin inhibitors and their relationship to pancreatic hypertrophy and growth inhibition of rats. Fed. Proc. 24, 1488.

Rackis, J. J., Smith, A. K., Babcock, G. E., y Sasame, H. A.

1957. An ultracentrifugal study on the association-dissociation of glycinin in acid solution. J. Am. Chem. Soc. 79, 4655.

Rackis, J. J., Smith A. K., Nash, A. M. Robbins, D. J. y Both, A. N. 1963. Feeding studies on soybeans growth and pancreatic hypertrophy in rats fed soybean meal fractions. Cereal Chem. 40, 531.

Rakosky, J. Jr. y 1981. Trip report, México City, Soy Protein Consultant American Soybean Association.

Reynolds, M. S. y Hall, C. 1950. Effect of adding soy flour upon the protein value of baked products. J. Am. Dietet, Assoc. 26, 584.

Roberts, R. C. y Briggs, D. R. 1963. Characteristics of the various soybean globulin components with respect to denaturation by ethanol. Cereal Chem. 40, 450.

Rose, W. C. 1949. The amino acid requirements of man federation Proc. 8, 546.

Rose, W. C. 1957. The amino acid requirements of adult man. Nutr. Abstr. Rev. 27, 631.

Saio, K. y Watanabe, T. 1966. Preliminary investigation on protein bodies of soybean seeds. Agr. Biol. Chem. (Tokyo) 30, 1133.

Saio, K. y Watanabe, T. 1968. Observation of soybean foods under electron microscope. J. Food Sci. Techno. Japan 15, 290.

Sambeth, W., Nesheim, M. C. y Serafin, J. A. 1967. Separation of soybean whey into fraction with different biological activities for chicks and rats. J. Nutr. 92, 479.

Schaper, G. 1958. Methämoglobinämie bei jungen Säugkubgeb durch nitrathaltiges Wasser. *Medizinsche* 115.

Schneider, D. L., y Sarett, H. P. 1969. Growth of baby pigs fed infant soybean formulas. *J. Nutr.* 98,279.

Sekul, A. A., Vinnett, C. H. y Ory, R. L. 1980. Aereation. En "Protein Functionality in Foods" A.C.S. Symposium. Serie 147. Ed. John P. Cherry. Am. Chemical Soc. Houston. Tex. P. 14.

Senti, F. R. 1969. Formulated cereal foods in the U.S. Food for Peace Program. In protein enriched cereal foods for world needs, M. Milner (Editor). Am. Assoc. Cereal Chemists. St. Paul.

Sharpless, G. R., Pearsons, J., y Proto, G. S. 1939. Production of goiter in rats with raw and with treated soybean flour. *J. Nutr.* 17, 545.

Shaw, J. C., Moore L. A., y Sykes, J. F. 1951. Plasma carotene and vitamin A and liver vitamin A of calves. *J. Dairy Sci.* 34, 176.

Shaw J. C., Moore, L. A., y Sykes, J. F. 1951. The effect of raw soybeans on blood plasma carotene and vitamin A and liver vitamin A of calves. *J. Dairy Sci.* 34, 176.

Shibasaki, K., y Okubo, K. 1966. Starch gel electrophoresis of soybean proteins in high concentration of urea. *Tohoku. J. Agr. Res* 16, 317.

Shibasaki, K., Okubo, K., y Ono T. 1969. Food chemical studies on soybean proteins. V. On the insoluble protein components of defa-

tted soybean heated by steaming. J. Food Sci. Technol. Japan 16, 22.

Smiley, W. G., y Smith, A. K. 1946. Preparation and nitrogen content of soybean protein. Cereal Chem. 23, 288.

Smith, A. K. et al. 1966. Nitrogen solubility index, isolated protein yield, and whey nitrogen content of several soybean strains. Cereal Chem. 43, 261.

Smith, A. K., y Circle, S. J. 1938. Peptization of soybean proteins. Extraction of nitrogenous constituents from oilfree meal by acids and bases with and without added salts. Ind. Eng. Chem. 30, 1414.

Smith, A. K., Circle, S. J., y Brother, G. H. 1938. Peptization of soybean proteins. The effect of neutral salts on the quantity of nitrogenous constituents extracted from oil-free meal. J. Am. Chem. Soc. 60, 1316.

Smith, A. K., Schubert, E. N., y Belter, P. A. 1955. Soybean protein fractions and their electrophoretic patterns. J. Am. Oil Chemists' Soc. 32, 274.

Smith, H. M., Smith, J. M., y Spring, F. S. 1958. Triterpenoids LVI. Soyasapogenols A, B and C. Tetrahedron 4, 111.

Smith, A. K., Johnson, V. L., y Derges, R. E. 1951. Denaturation of soybean protein with alcohols and with acetone. Cereal Chem. 28, 325.

Smith, A. K., y Rackis, J. J. 1957. Phytin elimination in soybean protein isolation. J. Am. Chem. Soc. 79, 633.

Spackman, D. H., Stein, W. H., Y. Moore, S. 1958. Automatic recording apparatus for use in chromatography of amino acids. Anal. Chem. 30, 1190

Stead, R. H., De Muelenaere, H. J. H., Y. Quicke, G. V. 1966. Trypsin inhibition, haemagglutination and intraperitoneal toxicity of Phaseolus vulgaris and Glycine max. Arch. Biochem. Biophys. 113, 703.

Sund, H., Y. Weber, K. 1966. The quaternary structure of proteins. Agew, Chem. Intern. Ed. Engl., 5, 231.

Tanford, C. 1968. Protein denaturation. Advan. Protein Chem. 23, 121.

Taranto, M. V., Cegla, C. F., Bell, K. R. Y. Rhee, K. C. 1980, Solid texture properties. En "Protein Functionality in Foods". Symposium. Serie 147. Ed. John P. Cherry. Am Chemical Soc. Houston Tex. p. 14

Terri, A. E., Virchow, W. E., Y. Loughlin, M. E. 1956. A microbiological method for the nutritional evaluation of proteins. J. Nutr. 59, 587.

Thulin, W. W. Y. Kuramoto, S. 1967. "Bontrae" a meal-like ingredient for convenience foods. Food Technol. 21, 168.

Tombs, M. P. 1967. Protein bodies of the soybean. Plant Physiol. 42, 797.

Tung, M. A. 1980. Protein functionality in foods. Symposium. Serie 147. Ed. John P. Cherry. Am. Chemical Soc. Houston Tex. 13.

Vaintraub, I. A. 1965. Isolation of the 2S component of soybean globulins. Biokhimiya 30, 628; Biochemistry (USSR) (English Transl) 30, 541

Vaintraub, I. A., y . Shutov, A. D. 1969. Isolation an certain properties of the 2.8S protein of soybean seeds. Biokhimiya 34, 984. Biochemistry (USSR) (English Transl.) 34, 795.

Vanwyk, J. I., Arnold, M. B., Wym, J., y Pepper F. 1959. The effect of a soybean product on thyroid function in humans. Pediatrics. 24, 752.

Watanabe, T., y . Nakayama, O. 1962. Study of water-extracted protein of soybean. J. Agr. Chem. Soc. Japan 36, 890.

Wolf, W. J., Babcock, G. E., .y . Smith, A. K. 1962. Purification and stability studies of the 11S component of soybean proteins. Arch. Biochem. Biophys. 99, 265.

Wolf, W. J., y . Briggs, D. R. 1959. Purification and characterization of the 11S component of soybean proteins. Arch. Biochem. Biophys. 85, 186.

Wolf, W. J., y Sly, D. A. 1964. Effects of buffer cations on chromatography of proteins on hydroxylapatite. J. Chromatog. 15. 247.

Wolf, W. J., y Sly, D. A. 1967. Cryoprecipitation of soybean 11S protein. Cereal Chem. 44, 653.

Wolf, W. J., Sly, D. A., y Babcock, G. E. 1964. Denaturation of soybean globulins by aqueous isopropanol. Cereal Chem. 41, 328.

Wolf, W. J., Sly D. A., y Kwolek, W. F. 1966. Carbohydrate content of soybean proteins. Cereal Chem. 43, 80.

Wu, Y. V., y Scheraga, H. A. 1962. Studies of soybean trypsin

inhibitor. I. Physico-chemical properties. *Biochemistry I*, 698.

Yasumatsu, K., Toda, J., Wada, T., Misaki, M. y Ishii, K. 1980.  
Matrix and Film Formation. En "Protein Functionality in Foods" A.C.S.  
Symposium Serie 147. Ed. John P. Cherry. Am. Chem. Soc. Houston, Tex. p. 14

Yudkin, I. 1974. Proc. 1st Int'l Congr. Environment. Biol. Med.  
UNESCO, Paris, France.