



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

MONOGRAFIA SOBRE EL COLAGENO
Y
SUS APLICACIONES

M O N O G R A F I A

Que para obtener el título de:

Q U I M I C O

P r e s e n t a :

ENRIQUE ROJAS PONCE

México, D. F.

1979



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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 esta 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.

LAB TESIS 1979
NO M.F. 304
FECHA _____
PROG. _____
S. _____



A MI MADRE;

ISABEL PONCE GARCÍA.

PRESIDENTE.

ING ENRIQUE GARCIA GALEANO. _____

VOCAL. EMILIO BARRAGAN HERNANDEZ. _____

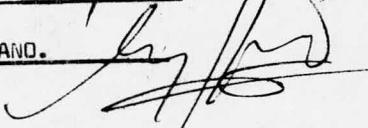
SECRETARIO. ING ALEJANDRO GARDUÑO TORRES. _____

1er. SUPLENTE. PROF GILBERTO VILLELA TELLEZ. _____

2o. SUPLENTE FIDEL FIGUEROA MARTINEZ. _____

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA. FACULTAD DE QUIMICA

NOMBRE DEL SUSTENTANTE. ENRIQUE ROJAS PONCE 

NOMBRE DEL ASESOR. ING ENRIQUE GARCIA GALEANO. 

CONTENIDO

TEMA I.- INTRODUCCION

TEMA II.- EXTRACCION Y PURIFICACION

TEMA III.- ESTRUCTURA DEL COLAGENO

TEMA IV.- REACCIONES DEL COLAGENO

TEMA V.- APLICACIONES

TEMA VI.- NORMAS OFICIALES

TEMA VII.- RESUMEN Y CONCLUSIONES

TEMA VIII.- BIBLIOGRAFIA.

INTRODUCCION

En este trabajo se hizo una recopilación de datos bibliográficos del colágeno, haciendo énfasis en uno de sus principales usos que es la gelatina, como objetivo fundamental para aprovechar la información que al respecto existe y; partir de este hecho como base para ampliar la información en forma experimental en un momento dado. La gelatina tiene una gran variedad de usos, de los cuales destaca su uso alimenticio; aún cuando la gelatina no es un alimento nutricionalmente completo es interesante principalmente por sus propiedades fisicoquímicas.

En algunos países ésta ha dado lugar al nacimiento de medianas y grandes industrias que han preparado una serie de productos que van desde: Postres, jaleas, capsulas y emulsiones fotográficas.

Cada uno de estos productos sometidos desde luego a un control de calidad que puede ser totalmente estricto o bien muy elástico dependiendo del criterio y del capital del industrial.

Una breve historia de la extracción de la gelatina nos ejemplifica algunas propiedades del colágeno que son aprovechadas para separarlo de algunos tejidos, y posteriormente hacer extracciones a nivel industrial; - lo cual se logra generalizando dos procesos que son:

El proceso ácido y el proceso alcalino.

Independientemente del proceso a seguir el manejo de las variables temperatura y tiempo son importantes para obtener buenos rendimientos y calidad.

Así en este trabajo se introducen tres diagramas de flujo cada uno con diferente tipo de materia prima pero que generalizan los dos procesos.

El producto de la extracción es conocida como gelatina y para efectos de intercambio comercial como "gretina pura comestible" la gretina pura comestible como producto alimenticio se encuentra controlada por la norma oficial de calidad DGN F-43- 1970. La cual establece entre otras cosas: Clasificación, especificación, definición y métodos de prueba.

En otro tipo de normas oficiales; se recopiló información tal como: Lotes de entrega, lotes de prueba; determinaciones físico-químicas, de terminación de fuerza gelificante, porciento de humedad sacarosa y determinación de áidez además de un anteproyecto para gelatina comestible.

Se dilucida la estructura del colágeno en base a una serie de experiencias de investigadores, teniendo en cuenta la difracción de los rayos X como prueba analítica en la presencia de colágeno.

En el desarrollo de la estructura fue importante el criterio de Pauling- Corey, que en cierta forma limita el desarrollo de cualquier estructura de protefnas; la estructura del colágeno tiene principalmente 35% de glicocola, 11% de alanina, 12% de prolina, y 9% de hidroxiprolina; teniendo en cuenta el diagrama de difracción de rayos X se puede decir que la estructura secundaria del colágeno es de una triple helice de cadenas polipéptidicas.

En cuanto las aplicaciones del colágeno se analiza en primer término su composición química y sus propiedades fisicoquímicas se describe - en detalle el uso del gelómetro, para determinar la intensidad de gel, ta mbi én se incluyen algunos usos de la gelatina como alimento y en su uso fotográfico.

Por otro lado se presta atención a las reacciones de coordinación y a los factores que intervienen en el curtimiento de cueros con cromo, - sulfo ácidos condensados, aldehídos y quinona.

EXTRACCION Y PURIFICACION

En forma general la materia prima para el colágeno son las pieles y los huesos, en los EE.UU. se utiliza mucho la piel de cerdo en México por no ser costeable económicamente se utilizan los recortes de piel y el hueso de pescado u otro tipo de hueso como el de ternero, cabra, etc,

En EE.UU. cuando no se utiliza la piel de cerdo fresca hay la necesidad de preservarla para evitar la putrefacción; lo que se usa más comúnmente es la sal y la cal así como la disecación.

En general la extracción del colágeno está basada por uno de los dos siguientes procesos: EL PROCESO ACIDO Y EL PROCESO ALCALINO, aunque cabe señalar que es muy difícil preparar colágeno libre de impurezas, ya que no hay métodos para remover: él retículo, la elastina, la codrina y otras proteínas que son difícilmente solubles en agua caliente sin modificaciones del colágeno mismo.

El proceso de extracción disocia la estructura del colágeno, separando las cadenas de polipéptidos y rompiéndolas en segmentos, en el caso; de la conversión del colágeno en la gelatina, ya que es uno de los usos más grandes que tiene.

Zachariadas en 1900 fue el primero en demostrar que el colágeno puede ser solubilizado, usando técnicas poco rigurosas, él encontró que fracciones apreciables de tendones de ratas pueden ser disueltas, en soluciones diluidas de ácidos: fórmico, acético, oxálico, clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico y otros.

Sin embargo el significado de este descubrimiento no llegó hacer- aparentemente útil, hasta 1927 cuando Nagoete demostró que extractos áci- dos de colágeno soluble pueden ser reconstituidos en fibras, las cuales - son microscópicamente parecidas a las del colágeno nativo, esta similitud- fue ampliamente soportada recientemente por la difracción de rayos X, y los estudios del microscopio electrónico, ya para entonces se tiene investiga- do que el colágeno de una variedad de tejidos puede ser llevado a solución, usando ácidos diluidos.

Frimiet y Gar Rault en 1937 presentaron sus trabajos fisicoquimi- cos sobre colágeno soluble usando ácidos cítricos, básicamente este proce- dimiento involucra extracción de trozos de tejido conectivo con un boffer- de citrato diluido a pH 3.5/4, seguido por removimiento de residuo insolu- ble y diálisis del extracto, contra porciones de agua o soluciones de sal- diluidas, el colágeno disuelto es precipitado como agujas cristalinas las- cuales son purificadas por repetición de este ciclo.

Ha sido demostrado en pocos años que el colágeno puede ser disuel- to así mismo, en una variedad de soluciones de sales neutras y álcali poco rigurosos.

Usaremos el genérico "colágeno soluble" para referirnos a los pro- ductos de todos estos procedimientos de extracción poco rigurosos.

PROCESO ACIDO.

El proceso tipo ácido está basado usualmente en el uso de pieles- de cerdo, y es el más comercial en los EE.UU. La piel de cerdo es deshie-

lada y lavada en agua fría, vertida y mojada en solución al 5% de ácidos - inorgánicos, este proceso se lleva a cabo con ácido clorhídrico, sulfúrico, fosfórico y sulfuroso. El ácido diluido se lleva de 10 a 30 horas, después de la cual la solución ácida es removida y enfriada, el agua es usada para lavar el exceso de ácido y bajar el pH de la piel mojada a 4; más la proteína no colágena tiene un punto isoeléctrico en el rango del pH 4/5, y así más rápidamente coagula y se remueve.

En las pieles en condiciones ácidas, se lleva a cabo una serie - de calentamientos donde las variables son; tiempo y temperatura la extracción inicial o primera corrida se lleva a cabo en grandes tiempos y bajas temperaturas, cerca de 60°C, la temperatura se va aumentando de 5 a 10°C - sucesivamente en cada extracción.

En las subsecuentes extracciones cada corrida, involucra varios - requerimientos.

El extracto diluido es filtrado a presión y concentrado por evaporación al vacío, la solución del concentrado caliente es enfriada enseguida al punto de gelificación, entonces debe controlarse la temperatura de - enfriamiento y la humedad, la velocidad de enfriamiento es regulada para - evitar fusión o hidratación en la superficie de la gel. Como resultado de éste proceso se obtiene una gelatina la cual es granulada, pulverizada y - también graduada con un gelómetro de Bloom. Los geles fuertes y viscosos - son el criterio para graduar las demás gelatinas, para dar al producto, - una especificación deseada. Cabe señalar que la última extracción se hace casi a la temperatura de ebullición del agua para prevenir la degradación - excesiva de la molécula.

PROCESO TIPO ALCALINO.

Además la materia prima también se puede someter a un tratamiento con suspensión de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ por un período de uno a seis meses, a un pH aproximado de 12 a 13, la temperatura del baño de cal es la ambiente y se mantiene aproximadamente constante debido a la alta humedad presente por la evaporación del agua, la cantidad total de cal está en proporción al 10% del peso de la piel, en caso de usar sosa caustica se requiere menos cal, el proceso de encalado quita muchas impurezas, de las cuales las principales son: Proteínas no colágenas, mucopolisácaridos y sales.

Los grupos amido se hidrolizan, con el consecuente incremento de grupos carboxilos, algunos grupos amino terminales se liberan indicando un pequeño grado de hidrólisis de cadenas péptidas.

En el aspecto físico se presenta un hinchamiento del colágeno el cual avanza conforme aumenta la duración del encalado, no se puede decir con certeza, cuales cambios son esenciales y cuales incidentales, se requiere cierta reducción en la longitud de las cadenas de colágeno para la conversión. Puesto que las investigaciones sobre, colágeno de piel sugieren que las cadenas en el material no modificado son; largas y algunas cíclicas.

No hay indicación de cambios, en la composición de aminoácidos excepto de los que resultan de la eliminación de impurezas.

El proceso alcalino se ha usado más, utilizando como material prima los huesos, estos son desmineralizados con ácido diluido, hasta remover las sales de calcio particularmente el fosfato, entonces los huesos y cueros son tratados de similar manera. El colágeno frío es lavado e hidratado en agua fría; en grandes tanques se añade exceso de agua y óxido de calcio en suficiente cantidad hasta que el agua forma soluciones saturadas de hidróxido de calcio, los huesos son dejados en moldes de óxido de calcio por períodos de doce a trece semanas o más, dependiendo de la alcalinidad el tratamiento de óxido de calcio remueve extraños albuminoides como: Globulinas, mucopolisacaridos, albuminas tales como carótidos y otros pigmentos, después que la calcificación es completa el óxido de calcio es lavado en la superficie con agua de corriente por un día, la base residual es neutralizada por lavados con ácido clorhídrico diluido, el colágeno es removido si está limpio y flácido, en este punto el colágeno tendrá un pH entre 5 y 8 después se cuece y los licores del cosimientos son filtrados y concentrados se hace el balance completo de viscosidad e intensidad de gel por el mezclado de diferentes extracciones.

La oseína, también es materia prima para el colágeno y; es el residuo de los huesos del ganado, los huesos se muelen y se ponen en tanques para la extracción de minerales, la extracción es completa cuando en los pedazos de huesos no quedan centros duros, después de la extracción el material es conocido como oseína y enseguida se puede tratar por un proceso ácido o alcalino.

DIAGRAMA DE FLUJO N° 1

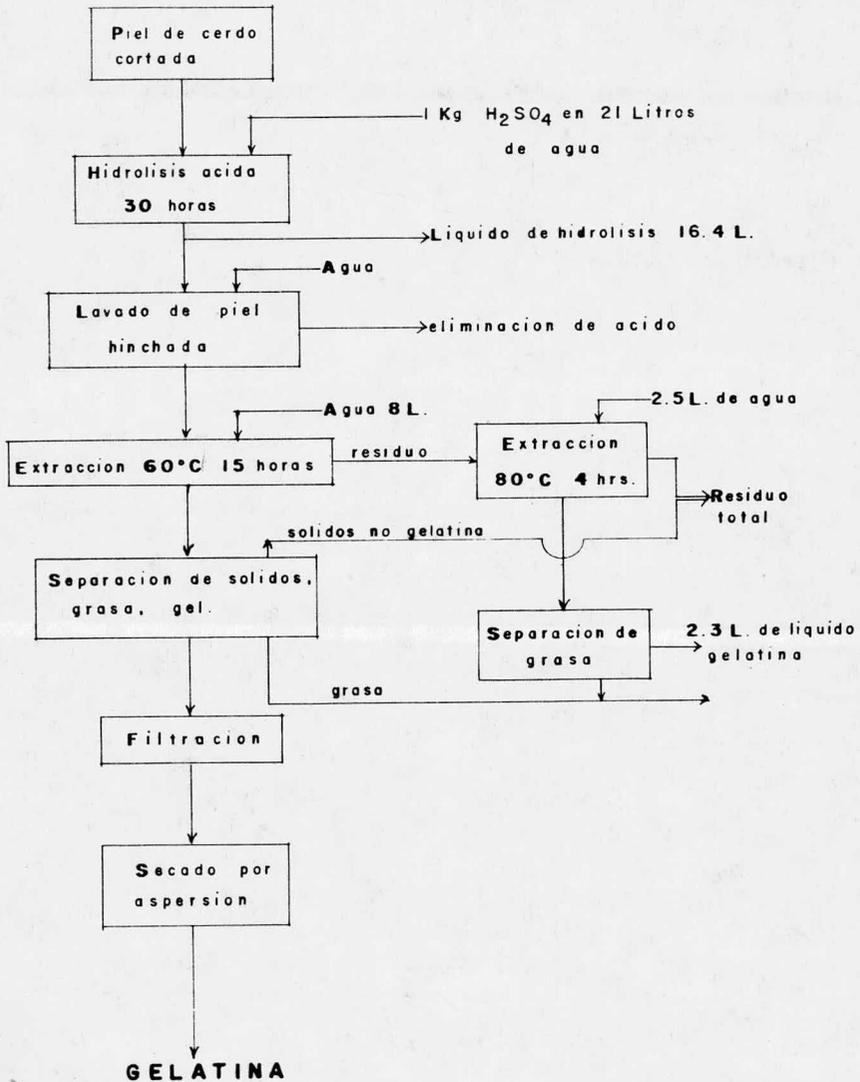


DIAGRAMA DE FLUJO Nº 2

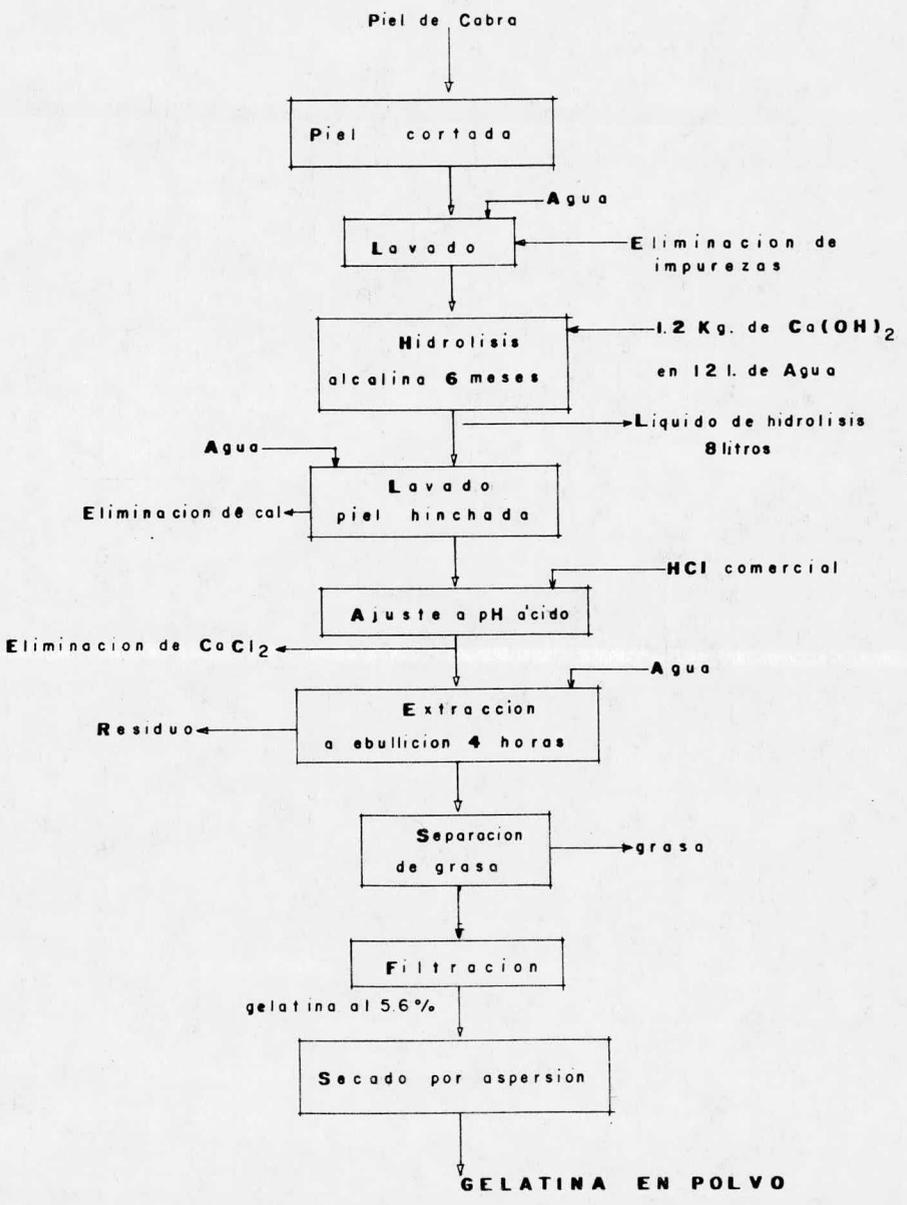
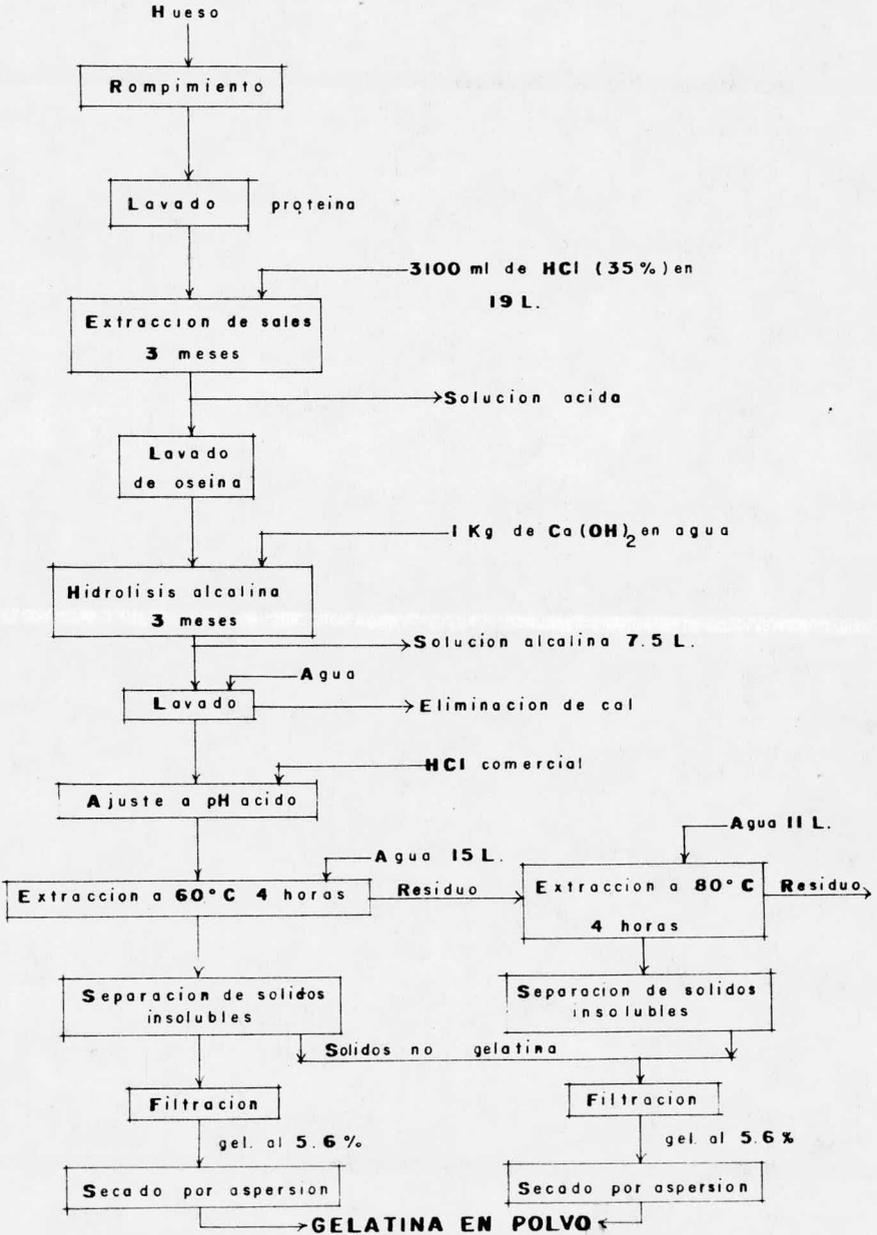


DIAGRAMA DE FLUJO N° 3



ESTRUCTURA DEL COLAGENO

En esta sección la estructura del colágeno en el estado sólido es tá considerada a dos niveles; en el primero se describe en detalle, las - ideas y corrientes sobre la configuración y empaquetamiento, de las cade--nas polipéptidicas en el colágeno, y en el segundo los datos de difracción de rayos X.

La difracción de los rayos X es considerada la mejor prueba análitica para la presencia de colágeno, en una muestra de tejido.

A groso modo el principio fundamental de la difracción de los - rayos X es el siguiente:

Cada átomo en un cristal tiene el potencial para dispersar un haz de rayos X insidente en él. La suma de todas las ondas dispersadas en el cristal da por resultado el haz de rayos X, toda substancia cristalina dispersa los rayos X en su propio patrón de difracción único, produciendo una "huella" de su estructura atómica y molecular, la intensidad de cada reflexión forma la información básica requerida en el análisis de la estructura del cristal, una característica única de difracción de rayos X es la de - que los componentes se identifican como compuestos específicos.

Debido a que átomos diferentes tienen diversos números de electrones su dispersión relativa varia, como consecuencia la estructura del cristal determina la intensidad y posición del haz difractado, aún cuando los cristales tengan retículos idénticos, el tipo de átomos que los forma puede ser diferente por lo tanto cada especie de cristal difracta los rayos X

en una forma característicamente diferente. La identificación de compuestos, desconocidos a partir de sus diagramas de difracción de rayos X es - probablemente la aplicación más amplia de los métodos de difracción.

CONFIGURACION DE LA CADENA POLIPEPTIDICA EN EL COLAGENO.

La principal reflexión característica, de éste material puede verse en la fotografía típica de rayos X; la reflexión meridional es de 2.86 \AA y 11 \AA la reflexión ecuatorial, puede ser visto un halo difuso - muy débil sobre el meridiano a 9.5 \AA y a 4 \AA cerca del ecuador. Como la humedad en la fibra continuamente está progresando, el espacio gran angular meridional no es apreciable por la hidratación. Sowan en 1953 demostró que hay un alargamiento de la fibra de colágeno, hasta de un 10% durante el registro de la fotografía de rayos X. Resulta más ventajoso el modelo que contiene reflexiones discretas este alargamiento del modelo, revela que el meridional es de 4 \AA , y que la reflexión ecuatorial es difusa aproximadamente a 4 \AA .

Fueron propuestas un par de estructuras más o menos simultáneas - por RICH-CRICK, y por SOWAN en 1955 y fueron aceptadas en forma general como correctas.

Uno de los propósitos en el desarrollo de la estructura del colágeno estuvo basado en el intento de llevar acabo dos objetivos: 1.- Suministrar una aplicación razonable a la fuerza del reflejo meridional de 2.86 \AA . 2.- De algún modo capacitar el gran número de residuos de iminoácidos en la estructura.

Además se vió en el modelo equivalente que los residuos de aminoácidos aparecen al mismo nivel en cada cadena, los átomos de carbono alfa de cada tres residuos ocupan en un nivel dado las esquinas de un triángulo equilátero localizado perpendicularmente a los ejes de la fibra. Una rotación de 40° y una translación aproximadamente de 2.86 \AA fue revisada por la especificación de una secuencia, CIS-TRANS-CIS de uniones peptídicas y un arreglo de correspondencia de aminoácidos Gli-Pro-X, donde X es cualquier otro residuo como prolina o hidróxiprolina. En la intercadena peptídica los puentes de hidrógeno están formados entre dos de tres residuos de cada trífada, la unión peptídica es perpendicular al eje de la fibra, las uniones que no son puentes de hidrógeno entre los elementos de triplecadena también fue propuesta, y esto permite a los elementos un movimiento relativo a una u otra cadena, esta estructura representa un mejoramiento sobre los demás intentos y satisfase el criterio de Pauling-Corey y da una verdadera medida de 2.86 \AA . La experiencia subsecuente la encontró inadecuada y fue abandonada, éste abandono puede ser evidente:

Así se tiene que primero, apesar de que el modulo considerado es satisfactorio al espacio axial de 2.86 \AA y al comportamiento ecuatorial de 11 \AA la estructura no explica otras descripciones del modelo de rayos-X, ni fue cuantitativamente compatible con las medidas de dicroismo infrarrojo.

Segundo.- El modelo riguroso de que dos terceras partes de uniones peptídicas asumen la configuración cis, es todavía medida cuidadosamente por la absorción infrarroja, Badyerin Pullin en 1954 demostró que el colágeno las contiene muy poco, además Pauling-Corey intencionalmente dejan ver que la configuración trans es probablemente más estable que la cis; en

los dipéptidos cíclicos diceto piperozina la forma trans del agrupamiento-amida es preferida, y puede ser usado en estructuras propuestas de polipéptidos en cualquier momento posible.

y Tercero.- El trabajo de la secuencia de los aminoácidos de Shroeder en 1953- 1954 y Knoar en 1953-1955 demostró que la secuencia pro-Hipro es la común en el colágeno, y esta secuencia no puede ser acomodada aún en la estructura de Paulin-Corey.

Astbury en 1940, Huggins en 1943, Ambrose y Elliot en 1951 entre otros propusieron estructuras que pueden ser consideradas por la aparente-inestabilidad de la fibra del colágeno; pero son opacados por Paulin y Corey ya que en 1951-1952 especifican el criterio estereoquímico con el cual en cualquier polipéptido propuesto su estructura será más satisfactoria. - Así cuando en los siguientes años Cochran en 1952 presenta cálculos de la-transformada de fourier para la estructura helicoidal exáminando en forma-directa los modelos de rayos X, se hace el problema más fácil y más difícil; más fácil ya que es posible una estructura discreta, y más dificultoso por que el número de criterios para aceptar una estructura se hace cada vez más grande.

Una de las primeras consecuencias de este desarrollo hace notar - violaciones serias de todas las estructuras propuestas, al criterio de Paulin-Corey, con respecto a la longitud de las uniones ángulos y coplanaridad de agrupamientos amida. Tambien se hace notar en base a los resultados de Cohran que el colágeno necesita ser una configuración helicoidal.

Cohen y Bear en 1953 delinear las propiedades estereoquímicas de estructuras aceptables de polipeptidos y; presentan detalladas descripciones de alfa y beta helices y beta estructuras, Pauling y Corey en 1951 propusieron una estructura para el colágeno y sugieren una estructura de triple cadena con cada cadena polipeptídica enrollada en una helice, todas - las estructuras de tres helices tienen un eje en común.

En 1952 Randall propone una estructura más diferente en donde sitúan todas las uniones peptídicas en la configuración trans y ejecutan el espacio meridional requerido, inclinando los residuos a obtener una separación axial de 2.86 \AA y la separación entre átomos de carbono alfa, y además capaz de orientar los grupos N.H., así también satisfacen los datos de infrarojo, además el modelo es considerado satisfactorio para los datos de rayos X.

El modelo de Pauling no lo pueden explicar, sin embargo el modelo propuesto fue una estructura plana dimensional y; como tal no está de acuerdo con la configuración helicoidal sugerida por la forma general del modelo de rayos X.

Bear y Cohen en 1952-1953 no proponen una estructura específica, pero comienzan a formular un conjunto de condiciones las cuales hacen a un modelo, de éxito más satisfactorio, a partir de un análisis del modelo de rayos X, deducen que la estructura del colágeno será más helicoidal y consiste de más o menos siete grupos ligeramente equivalentes, localizados a lo largo de una helice discontinua, haciendo dos giros aproximadamente de 20 \AA a lo largo del eje de la fibra.

Bear en 1955 había ya encontrado un buen acuerdo con los datos de rayos X, en relación de 10 grupos dispersados y localizados a lo largo de tres vueltas de helices. Así mismo notó que los aspectos posicionales del modelo de difracción, pueden ser satisfechas por especificaciones de 2, 3- o N dobleces; Bear en 1952 tentativamente promueve un prototipo de colágeno que es una versión modificada de la gama helice, descrita por Pauling - en 1951; es una estructura de una sola helice con un armado superficial, - puede considerar en mínimo los aparentes varios dobleces. Esto parece con firmarse con la micrografia electrónica de Smith en 1942. Sin embargo - una sola helice de éste tipo parece ser que no podrá satisfactoriamente - acomodar residuos de aminoácidos, ni se considera para el dicroísmo perpen dicular de N...H, y C = O en el estiramiento de frecuencias, y además no - incorpora una explicación única a la reflexión meridional de 2.86 \AA .

Huggins propone en 1954 una estructura completamente diferente, de un sólo tratado helicoidal, la cadena polipeptídica en su modelo fue enro llada en una helice izquierda con diez residuos por giro y un espacio de - 9.5 \AA . Esto fue construido resumiendo los ángulos de unión de Pauling-Co rey y las distancias planares de los agrupamientos amida, incluyendo pepti dos rectilíneos e intercadenas N...H...O, y los puentes de hidrógeno de - igual magnitud aunque éste modelo estuvo basado en la unidad repetitiva de tres residuos con sólo una posición, y cada prolina o hidróxiprolina fue - acomodada sin distorsión excluyendo la secuencia común; Pro-Hipro de la - porción cristalina de la estructura.

Crick en 1954 propuso una helice de doble trenza, el modelo con- sistio del enrollado de dos cadenas de polipéptidos helicoidales, alrede dor de un eje común y uniendolas por puentes de hidrógeno peptídicos, las-

unidades peptídicas están todas en la posición *cis* y; la repetición de unidades consistió de un par de residuos uno perpendicular y el otro paralelo al eje de la fibra pasando a través de los átomos de carbono alfa por pares de residuos. Cada nivel está separado 2.95 \AA ; sin embargo como Crick así mismo apuntó este modelo incorporó fuerzas de Van der Waals, no usuales. Además este modelo sufrió incompatibilidad con las medidas de dicroísmo infrarrojo.

Finalmente en 1954 Ramachandran y Kartha proponen una estructura la cual fue incorrecta en ciertas particularidades. Los residuos fueron arreglados en tres cadenas equivalentes polipeptídicas cada una enrollada en una helice izquierda con tres residuos por cada vuelta y; en un espacio de 9.5 \AA . Este modelo difirió del de Pauling-Corey en que: Cada cadena es enrollada alrededor de su propio eje, más bien que alrededor de un eje común, las cadenas están unidas por puentes de hidrógeno como sigue: en cada vuelta de cada helice dos de los tres nitrógenos peptídicos forman puentes de hidrógeno con uno de los oxígenos carboxilos, en cada una de las otras dos cadenas, este modelo tiene características positivas, todos los grupos amida están contruidos a las dimensiones de Pauling-Corey, en la configuración *trans*. Las longitudes de los puentes están cercanos a los valores aceptados y; los grupos amina y carboxilo son orientados cualitativamente y cuantitativamente a las medidas del dicroísmo infrarrojo. Sin embargo las cadenas al lado izquierdo no resuelven algunas grandes dificultades, además como en otros varios modelos la estereoquímica requirió una secuencia respectiva; Gli-Pro-X ($X =$ cualquier otro residuo), como puede ser prolina o hidroxiprolina, otra vez excluyendo la secuencia común Gli-Pro-Hipro en la región cristalina.

De los trabajos previos de Ramachandran y Kartha sobre poliglicina II resultan un par de estructuras, las cuales son estereoquímicamente satisfactorias y pueden acomodar la secuencia Gli-Pro-Hipro-. Esta estructura es generalmente aceptada como una aproximación a la estructura del colágeno en la región de difracción de la fibra, el desenrollado de las dos estructuras puede ser visualizado en dos pasos como sigue: Primero en ambas estructuras los polipeptidos de la cadena individual están enrolladas en una helice con tres dobleces, con ejes "atornillados" hacia la izquierda.

El total de la estructura del colágeno, son las tres cadenas que están relacionadas por un eje con tres dobleces cada una, y en ambas estructuras por cada repetición de tres residuos, está un puente de hidrógeno uniendo cada una de las otras cadenas; contribuyendo a los puentes de hidrógeno los grupos, NH_2 y $\text{C} = \text{O}$.

Las estructuras difieren básicamente solamente en la forma de la cadena, que están colocadas relativamente unas a otras. Las estructuras de Ramachandran y Kartha contienen 30 residuos por cadena, teniendo reunido la estructura del colágeno I y II pueden ser añadidos aminoácidos específicos al lado de las cadenas, en particular la secuencia Gli-Pro-Hipro- (lo cual contribuye de esta manera a la caída de cualquier previo modelo).

Para poder tener una máxima estabilidad de todas las estructuras y que estas no puedan ser rechazadas a priori deben satisfacer el criterio de Pauling-Corey, si la distorsión sugerida cae en esos rangos observados en estructuras conocidas, los modos de estabilización llegan hacer variables en base a esto, y a nuevos estudios de rayos X.

Finalmente la situación de la estructura del colágeno nos demuestra algunas objeciones aceptadas, ya podemos decir que la fibrilla del colágeno forma una red entre cruzada extendida en láminas, que cualquiera - que sea el orden de las fibrillas en el colágeno las fibrillas muestran - siempre un estiramiento transversal característico, si las observamos en - el microscopio electrónico, el estiramiento en el cual la distancia repetida es de unos 60 ó 70 Nm según el tipo de colágeno y de la especie del organismo, aunque los colágenos de diferentes especies, difieren algo en la secuencia de aminoácidos la mayor parte contiene alrededor de 35% de glicocola, y 11% de Alanina, los colágenos se diferencian de las betas queratinas porque contienen 12% de Prolina y 9% de Hidroxiprolina éste último - es un aminoácido que se encuentra raramente en proteínas distintas al colágeno; en base al diagrama de difracción de rayos X se ha logrado deducir - que la estructura secundaria del colágeno es la de una triple helice de cadenas polipeptídicas, cada una de las cadenas es una helice de tres restos enrollada hacia la izquierda, las cadenas se mantienen unidas mediante - puentes de hidrógeno; los frecuentes restos de Prolina determinan el tiempo distintivo de ordenación helicoidal de la cadena, mientras que los pequeños grupos R de los restos de glicina que aparecen en cada tercera posición permite que las cadenas se enrollen entre sí, la secuencia aminoácida de las cadenas no es muy bien conocida pero aparecen con mucha frecuencia: Gli-X-Pro, Gli-Pro-X, Gli-X-Hipro en la que X puede ser cualquier aminoácido; ninguna otra proteína que no sea el colágeno tiene cadenas triple helicoidales semejantes.

En sí la molécula del colágeno está compuesta por subunidades de monómeros llamados tropocolágenos, estos monómeros están dispuestos - cabeza con cola en muchos haces paralelos, pero las cabezas están alternadas -

lo cual permite interpretar el espaciado característico de 60-70 Nm, las cadenas polipéptidicas del tropocolágeno se hallan unidas covalentemente por enlaces transversales mediante restos de deshidrolisinonorleucina.

Adicionalmente podemos decir que el llamado tropocolágeno consiste de tres cadenas polipépticas helicoidales enrolladas, y que se comportan como una barra rígida; según Rich-Crick el colágeno tiene un P.M. de 350.000 y una longitud de 3000 A° y un diámetro de 14 A°.

Además se estableció que dos tipos de ligaduras contribuyen a la estructura secundaria y terciaria del colágeno, existen eslabones intramoleculares entre cruzados en las cadenas individuales del colágeno, y además de eslabones intramoleculares entre cruzados.

Las fibras del colágeno pueden experimentar considerables cambios físicos y mecánicos algunos son reversibles, hay funciones totales y parciales y una desorganización irreversible de la estructura interna pero estos cambios ocurren sin la solubilización de la fibra.

REACCIONES DEL COLÁGENO

En las reacciones complejas de agentes curtientes con colágeno, la coordinación de los dos componentes es en muchos casos de una importancia igual o más grande que las reacciones electrovalentes; la coordinación es tá localizada principalmente en los grupos péptidos. Algunos de estos grupos estan ya compensados por puentes de hidrógeno.

En vista de que el colágeno obtenido por tratamiento alcalino es tá involucrado en la fijación de agentes curtientes se hace notar que:

El pretratamiento alcalino cuida débilmente las ligaduras inter-nas, la coordinación activa de los grupos debiera ser considerada en la - forma usual del colágeno enalado, la presencia del enlace - CO-N = en - cada tercer residuo y el punto disponible para la coordinación que es in-variable en el colágeno nativo.

Tiene que ser previamente mencionado que en la desorganización de la estructura enrejada por la construcción de las cadenas de la proteína, - resulta el aumento del espacio entre algunos de los grupos peptídicos compensados, así el hinchamiento del colágeno por agentes **hidrotrópicos** cuida el incremento de la fijación de reactantes del tipo coordinativo, si-multáneamente la cohesión interna de la estructura es deteriorada, lo - cual puede tener consecuencias prácticas no deseables.

La apertura en la estructura tomará los grupos reactivos más accesibles a los agentes curtientes, y la activación de uniones peptídicas facilita multipuntos de ataque de moléculas grandes con grupos numerosos de - coordinación y los grupos peptídicos.

Las reacciones del tipo coordinativo son favorecidas estereoquímicamente. Los grupos $-CO-NH-$ debieran ser más fácilmente accesibles que los lados de las cadenas del colágeno a lo largo de la molécula con intervalos regulares entre grupos reactivos.

FACTORES QUE GOBIERNAN EL EFECTO CURTIENTE

Estos son principalmente: El tipo de sal, su basicidad (% de -
ácidez) tipo de compuesto, su concentración, su contenido de sal neutra, -
el valor del pH del sistema, la presencia de sustancias formadoras de com-
plejos, la temperatura del baño del curtido y el tiempo de interacción. -
Los factores mencionados pueden ser para los compuestos del cromo; la na-
turaleza y el estado del colágeno se consideran particularmente en los re-
sultados prácticos y en la calidad del cuerpo producido; tales factores -
son; la disponibilidad de grupos anfoónicos, la presencia de coordinación
del pellejo, y su grado de rigidez (si se incha o es flácida) en el esta-
do inicial del curtido; cualquiera de estos factores son interdependientes
y se dificulta su trato por separado:

a) La naturaleza del anión.- Es un factor de importancia para la
función del curtido. De las sales crómicas; los nitratos son menos satis-
factorios que los cloruros, los cuales a su vez son marcadamente inferio-
res que los sulfatos, éstos últimos son agentes más aceptados en el curti-
do, los complejos de formato son buenos agentes de curtido especialmente -
en mezclas de sulfatos.

Algunos complejos de oxalato tienen potencia de curtido pero la --
mayoría no. De los numerosos organos complejos de acetato, tartrato y -
oxiácidos no tienen poder curtierte.

La influencia del anión sobre la potencia de curtido; parece ser -
función de su afinidad por el átomo central, afectando indirectamente su -
función coordinativa y sus funciones en las reacciones secundarias.

b) Concentración de las sales de cromo.- Como se ve en la fig. 2 la fijación del cromo en el colágeno a partir de soluciones de cloruros básicos, aumenta firmemente con el aumento del cromo en la solución; ésto - probablemente refleja el hecho de que los cloruros crómicos básicos no forman complejos de baja afinidad para el colágeno, en soluciones concentra--das.

La reacción del sulfato crómico básico con colágeno es complicada; con el incremento de la concentración de cromo, acontece la formación de - complejos de cromo, no cargados y cargados negativamente. La fig. 2 mues- tra una marcada diferencia de reactividad hacia el colágeno que el tipo - común de complejos catiónicos de cromo, presentes en solución diluida. Así por ejemplo el 50% de sulfato crómico básico de composición correspondien- te a la fórmula empírica $Cr_4(OH)_6(SO_4)_3 \cdot 2Na_2SO_4$ contiene solamente comple- jos catiónicos de cromo.

En concentraciones arriba de un equivalente por litro de cromo su cantidad decrece fuertemente con el incremento de la concentración de cro- mo, existe formado principalmente complejo de cromo no cargado. Así una - concentración de 4 Eq/litro de cromo, la solución contuvo 60% de cationes, 38% de complejos no cargados y 2% de complejos de cromo aniónicos. En so- luciones de 8 eq/litro de cromo, las cantidades corresponden a: 35, 60 y - 65% respectivamente; entonces no sólo los complejos de cromo catiónico son fijados en el colágeno.

De las soluciones concentradas de sulfatos básicos, los complejos cargados y no cargados son fijados.

Los complejos no catiónicos son rápidamente cargados en el interior a catiónicos por la dilución (60-70% con 4-5 horas); el pellejo puede combinarse con complejos no cargados durante una breve duración de curtido en 4 horas, la fijación de cromo obtenida será mayor, tanto como con el resultado de una solución la cual tiene sólo complejos de cromo cargados positivamente.

La solución en que se curtió el cuero y que contiene sólo complejo del tipo catiónico, puede disminuir la temperatura en 5-6°C.

Una sorprendente ilustración del modo de determinar la temperatura disminuida es hecha, por gradual calentamiento del stock en agua comenzando en 40°C y aumentando dos grados por minuto.

El complejo de cromo no catiónico fijado por colágeno tiene tiempo para reorganizarse y formar un nuevo fijado en el colágeno, los cueros resultantes muestran completa resistencia al agua.

c).- Efecto de la sal neutra.- La acción de las sales neutras en el proceso del curtido es importante pero complicado y problemático, se tiene como regla, especialmente al sulfato de sodio como un constituyente regular de la preparación del "curtido-cromo" y el cloruro de sodio en el curtido de cueros.

Añadidos ambos al curtimiento como un regulador de hinchado; esto puede ser ilustrado, por el curtido de pellejos neutros o inmovilizando los pellejos en curtidos en una solución de sulfato crómico básico, a partir de sulfato de sodio. Por ejemplo una sal preparada para reducir ácido crómico en presencia de ácido sulfúrico y peróxidos de hidrógeno.

El pellejo se hincha y la penetración de la sal de cromo a través de la estructura del cuero puede ser retardada, y hasta cierto punto prevnida. Si el sulfato crómico altamente básico es usado, las uniones entrecruzadas del colágeno pueden tener impedimento estereoquímico. La función primaria de las sales neutras en el "curtido cromo" es el balance osmótico del hinchamiento del cuero; el cual toma lugar en el paso inicial del curtimiento. En la fijación preferencial del ácido libre por el colágeno, la concentración de sales neutras generalmente son usadas en el orden de 0.1 M, en un sistema junto con la sal crómica y en acción directa sobre la proteína no es detectable y; apenas marca la función de hinchamiento de la sal neutra sobre la proteína; más marcada es su efecto sobre las propiedades fisicoquímicas de la solución, tal como: la alteración del grado de hidrólisis y cambios electroquímicos de la solución crómica.

La función importante de la sal neutra en el curtido de cromo; fue descubierta por Wilson hace unos 30 años, se expone en resúmen de los resultados:

El efecto de la sal neutra en varios sistemas, por ejemplo: el cloruro de sodio incrementa la reactividad del cloruro crómico para el colágeno, en soluciones diluidas de cloruro de cromo; en soluciones concentradas el efecto es inverso. Esta acción es explicada por la influencia de la sal sobre la composición de la esfera coordinada, por el exceso de iones cloruro, los grupos cloruros existentes son forzados hacia el interior de la esfera. En soluciones de cloruros crómicos básicos, éste efecto es acentuado por la agregación del cloruro crómico.

El efecto negativo del incremento de la concentración de iones - de hidrógeno en el sistema, en soluciones concentradas de cloruros crómicos básicos, el cambio constitucional de complejos es rápidamente lograda, y por lo consiguiente no es alterada por la adición de cloruro de sodio; en éste caso el efecto principal de la sal puede ser el decrecimiento de - la fijación de cromo por incremento de la concentración de iones hidróge- no. Ambos estan relacionados; disminuye la afinidad del sulfato crómico - básico para el colágeno en presencia de cloruro de sodio, la explicación - puede ser primeramente: La formación de la mezcla -cloruro- sulfato, por- doble descomposición.

Debido a la adición de sulfato de sodio en soluciones de cloruros crómicos, y a la afinidad del complejo del grupo sulfato; son formados dos sistemas crómico básico: Sulfato-sodio-sulfato, éste presenta menos compli- cación y existe un sistema de un anión común; la adición de pequeñas can- tidades de sulfato de sodio a una solución de sal libre, de sulfato crómi- co básico tiende a incrementar la fijación del cromo por el colágeno. Este efecto no tiene ninguna relación con el efecto del sulfato neutro sobre el sulfato crómico, éste es probablemente un efecto puramente osmótico sobre- el cuero; suprimiendo su abultamiento y facilitando la comprensión y difu- sión del sulfato crómico, además por la adición del sulfato de sodio al - sistema, el sulfato crómico comunmente ocupado contiene sulfato de sodio - tal como; $Cr_2(OH)_2(SO_4)_2Na_2SO_4$ el efecto retardado del sulfato de sodio - sobre la fijación del cromo puede no ser efectivo a un determinado PH en- tonces la concentración de iones hidrógeno es disminuida.

Observaciones.- La reacción del sulfato crómico con el catión cam- biado como una función de añadir sulfato de sodio, demuestra una tendencia similar a la fijación del cromo por el colágeno, los análisis de las solu-

ciones por diferentes métodos de cambios iónicos; demostrados de tal manera, que una solución del 66% de sulfato ácido crómico (un equivalente por litro de cromo) contiene prácticamente todo el cromo en forma catiónica, - sobre la adición del sulfato de sodio.

Haciendo la solución IM en sulfato de sodio ella contendrá: 65% - de complejo catiónico, 6% de amiónico, y 29% de complejos sin carga. Por - tanto la solución concentrada de sulfato crómico básico contiene principalmente complejos no catiónicos, el "efecto retardado" del sulfato de sodio - sobre la fijación del cromo por colágeno es posible en éste caso.

Desde entonces debido a la adición del sulfato neutro no se esperan cambios en el equilibrio en forma alguna, una propiedad importante y - medible en el curtido, es la estabilidad hidrótermica, del cuero como una - función de la sal neutra contenida en el baño del curtido, medida por la - disminución de la temperatura; generalmente disminuye la fijación del cromo y la formación de compuestos de ácido crómico en la piel, con ésto asociado con el efecto de la sal neutra tiende a disminuir la temperatura; - quedo ilustrado por el sistema crómico-sulfato-sal neutra.

El efecto del sulfato de sodio hace mejor la estabilidad hidróter mica y baja la fijación del cromo; el cloruro de sodio disminuye la estabilidad hidrótermica. Esto puede ser atribuido a que el cloruro dicrómico, - en el cuero no produce tan grande disminución de la tempetaura como en el - curtido con sulfato crómico básico que contiene grandes cantidades de cloruro de sodio; ésto explica el bajo grado de estabilidad de este tipo de - cuero. Involucrando dos sistemas cloruros crómicos-sal neutra, puede decirse que la adición de sulfato neutro tambien como cloruros neutros, mejo

ra la estabilidad hidrótermica del colágeno. La estabilización existe par ticularmente debido a la acción del sulfato neutro, en la formación del - sulfato crómico básico. El efecto de las sales neutras en el curtido con-cromo presenta problemas teóricos de gran importancia, una aplicación ver-sátil, consiste en usarlo para regular el grado de "hinchamiento" en la fi jación inicial de cromo, el cual determina en gran parte el tipo de cuerpo final.

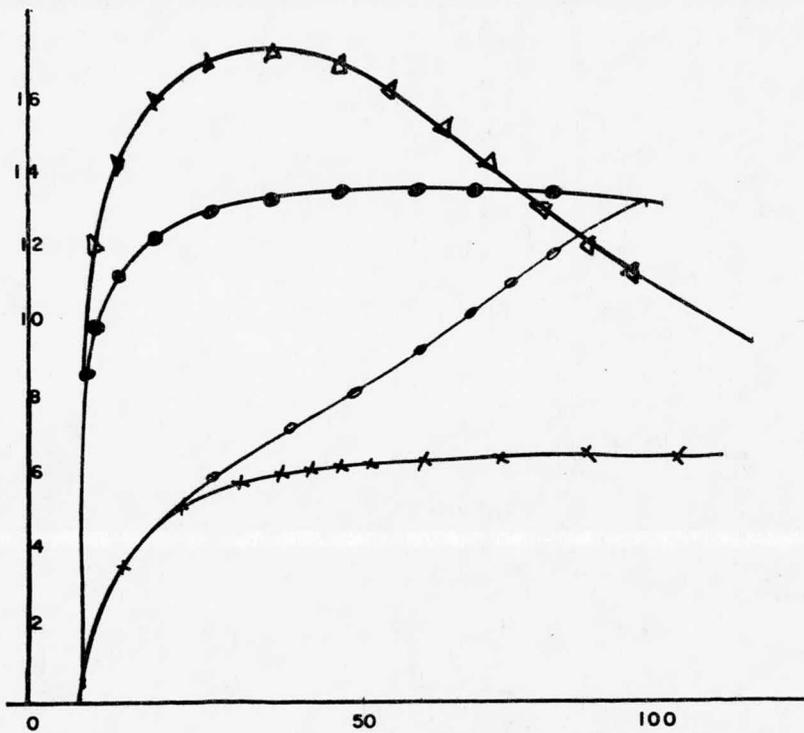


FIG 2

REACCIONES DE COMPUESTOS CON CROMO Y COLAGENO

Entre las sustancias inorgánicas, los compuestos de cromo especialmente las sales de cromo, tienen una buena posición como agentes curtientes; es muy probable que la capacidad del átomo de cromo para formar complejos no es el factor más decisivo para su capacidad curtiente. Así por ejemplo el cobalto trivalente es igualmente eficiente como un formador de complejos, pero sus compuestos no contienen potencia curtiente, las formas de los compuestos del cromo polinuclear de un grado intermedio de estabilidad, en soluciones acuosas forman compuestos del tipo $-Cr-O-Cr-$ sobre hidrólisis.

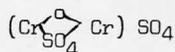
Sin embargo tales cambios hidrolíticos no son restringidos al cromo, invariablemente algunos metales relacionados muestran esta tendencia (Fierro, aluminio), el cromo difiere en que sus complejos en forma polinuclear generalmente están en equilibrio hidrolítico y reactivo, parece que una combinación de estas propiedades es decisiva en las propiedades curtientes.

La estructura electrónica del cromo con tres electrones no apareados entran en resonancia uno con otro en los compuestos de cromo iónicos y covalente.

I) ESTRUCTURA DE SAL DE CROMO BÁSICA IMPORTANTE EN EL CURTIDO.

En la práctica los sulfatos básicos de cromo contienen una cantidad equimolar de sulfato de sodio, que son comúnmente aplicados en curtidos; el sulfato básico difiere de los cloruros básicos; en que los grupos-sulfatos tienen una marcada tendencia a enlazarse directamente a los áto-

mos de cromo, formando complejos sulfato-cromo, el siguiente es un ejemplo



Son aplicados en curtimientos, sobre todo en complejos catiónicos. En soluciones concentradas (tan grandes como 4 N) contienen un gran porcentaje de moléculas neutras e invareables complejos de cromo con carga negativas. La composición electroquímica de cloruros básicos es independiente de la concentración de la solución, las sales de cromo poseen junto con la función electrovalente la facultad de coordinación. La esfera de coordinación determina la habilidad de coordinar el átomo central, la naturaleza de los efectos, de los complejos ligados de residuos ácidos (grupos ácidos) sobre la función coordinativa del cromo, es generalmente conocida; la tendencia agregativa de los compuestos es así mismo interrelacionada con la estructura de la esfera interna del complejo; el grupo sulfato parece ejercer óptima acción sobre la actividad coordinativa del átomo de cromo en el curtido.

Los grupos cloruros y nitratos están formando complejos débiles, generalmente se presentan en el estado electrovalente; algunos complejos fuertes están formados por residuos de ácidos orgánicos, el oxalato y el tartrato aparentemente permiten solo un ligero riesgo de efectuar la función coordinativa. La potencia curtiente de las sales básicas de cromo están en función de la facultad coordinativa del grado de agregación de las sales y del grado de ionización.

El tamaño del complejo es importante para la actividad polifuncional en la fijación de multipuntos de los compuestos de cromo, en los gru--

pos péptidos un sulfato ácido crómico utilizado en un 67% puede hacerse; - a partir de Hexacuosulfato por la adición de la cantidad requerida de NaOH, para producir un sulfato ácido con la composición correspondiente a la fórmula empírica $\text{Cr}_2(\text{OH})_2(\text{SO})_2 \cdot \text{Na}_2\text{SO}_4$. La solución es hidrolizada y la concentración es requerida de un eq/litro de cromo, y un PH aproximado de 3;- el colágeno neutro se combina inmediatamente con el ácido sulfúrico libre, simultáneamente el complejo de cromo sulfato, cargado positivamente como $(\text{CrOSO}_4)^{2+}$ está unido a los grupos carboxilos del colágeno, cargados negativamente y reaccionan con ellos; siendo compensados los iones sulfato por la carga de los grupos amino, el complejo de cromo está extremadamente unido al colágeno indicando en la conversión de la ligadura original electrovalente una mayor estabilidad. La despolarización de la unión colágeno-cromo, es probablemente el resultado neto de la penetración del grupo carboxilo del colágeno en el complejo de cromo, el cual también completa la reacción por coordinación, sobre grupos activos de coordinación.

El resultado final es la formación de un tipo modificado de una - sal compleja; con uniones covalentes multipunto. La formación de compuestos quelatos explican el alto grado de rigidez de la estructura resultante y la estabilidad del cuero curtido por cromo.

II) REACCIONES DE SULFO ACIDOS CONDENSADOS CON COLAGENO.

En el curtido los agentes sintéticos llamados "syntans" son generalmente productos de condensación de compuestos hidróxi-aromáticos y formaldehídos, convertidos en solubles por la introducción de grupos de ácido sulfónico. La fijación irreversible de fuertes sulfoácidos, por proteínas de la piel está regulada por:

Uniones ácidas estequiométricas, capacidad del colágeno, el grado de afinidad del anión sulfo ácido, por el grupo proteínico básico, y; por la estabilidad de las ligaduras formadas.

El efecto del tamaño molecular del sulfo ácido en la reacción con colágeno y la naturaleza del compuesto formado es ilustrado por:

El ácido Naften-Sulfónico el cual nos indica que también sus productos de condensación intervienen, el ácido B-naftalen-sulfónico indica que es fijado en cuero a un $\text{pH} = 2$ en el colágeno; y sucede particularmente el rompimiento de enlaces entrecruzados ionicos del colágeno por la fijación del ácido, además decrece la estabilidad hidrótermica; la disminución de la temperatura es de 10 a 12°C por la condensación de 3 ó 4 unidades de naftaleno usando formaldehído e introduciendo los grupos terminales de ácido sulfónico. El compuesto resultante puede ser fijado irreversiblemente, estos compuestos convierten la piel en el interior en un producto - "aceptador de cueros" con decrecimiento de temperatura.

Los grupos de ácido sulfónico de los compuestos que son fijados - irreversiblemente, interaccionan con la proteína, y el comportamiento de - estos compuestos hacia el colágeno muestra la importancia del tamaño molecular del agente curtiente, para la estabilización de las proteínas; otro tipo de compuestos nos indican que el ácido lignosulfónico está presente - en altas fracciones moleculares éstos compuestos tienen peso molecular de - 5000 a 10,000 y un peso promedio equivalente de 500; en gran parte el peso equivalente de los ácidos sulfo, fijados por colágeno es de cerca de 500.

Está demostrado que el ácido lignosulfónico contiene de 10 a 20 - grupos de sulfo ácido y está irreversiblemente fijado al colágeno, por me-

dio de todos los grupos sulfónicos considerables. Además el serbado (fruta) fija en el colágeno sólo parte del ácido lignosulfónico, reaccionando por medio de 2 ó 4 grupos de ácidos lignosulfónicos de 10 ó 20 presentes.

Según trabajos de Wolosenskg la presencia de sustituyentes de - coordinación activa, parecen ser necesarios en el mecanismo curtiente (los grupos fenólicos); en 26 claras condensaciones de fenoles, el resorsinol y piragolol fueron condensados con formaldehído a productos solubles en agua, particularmente a la forma de compuestos con excelentes propiedades curtientes; produciendo en condiciones neutras un cuero completamente estable, la fijación se hizo independientemente de la concentración de iones hidrógeno, y en un gran rango de pH.

Es importante el uso de sulfo ácidos condensados para la inactivación de grupos de proteínas básicas y; su influencia como pretratamiento del colágeno y subsecuente recurtido con recurtientes vegetales.

En comparación, la fijación de un ácido fuerte mineral (HCl) y - un ácido condensado de naftalen disulfónico (2 ó 3 unidades de naftaleno), y una fracción alta molecular, de ácido lignosulfónico, fijados en curtido vegetal a un pH óptimo; se hizo el descubrimiento de que:

La fijación del HCl completamente hidratado por medio de curtientes vegetales tales como: Wattle, Quebracho, Myrobalan fue de 85-95% del - máximo de uniones en la capacidad del cuero no tratado; en igual forma el ácido naftalen sulfónico se fijo de un 50-60% y; el lignosulfónico de - 30-40%. En el caso del Wattle 0.89 meq de ácido clorhídrico por gramo de colágeno, se fijo solamente 0.31 meq, y del ácido lignosulfónico se fijo -

0.52 meq del HCL a un pH de 1.5 que es óptimo para esta fijación. Debe aclararse que la fijación del lignosulfónico no involucra una reacción coordinada al menos como fijación inicial mínima; debido a su tamaño molecular y a la presencia de numerosos grupos de ácidos fuertes.

III) PODER CURTIENTE DE LOS ALDEHIDOS.

Acción de varios aldehídos.- Entre los aldehídos el formaldehído tiene una buena posición como agente curtiente, cuando los efectos de varios aldehídos son comparados en soluciones con partes iguales de agua y acetona, el acetaldehído tiene una acción débil y sus homologos más altos a él no tienen algún poder curtiente; algunos aldehídos no saturados como crotonaldehído, demuestran algo de potencia curtiente la cual se pierde al introducir grupos etil y propilo en las posiciones 2 y 3 del acroleína.

La muestra del dialdehído glioxal resulta un integro agente curtiente, particularmente en ciertos solventes orgánicos.

El derivado metil aldehído pirúvico y su acción curtiente es semejante al formaldehído, estos aldehídos tienen una tendencia a la condensación y polimerización.

Los aldehídos aromáticos: El benzaldehído y compuestos en cuya estructura aromática contienen el grupo CHO tienen efectos curtientes, la acción de la valencia de estos aldehídos es directa hacia la posición de los puentes de hidrógeno; rompiendo parte de las uniones entrecruzadas. Según los trabajos de Gerngross, los aldehídos aromáticos que contienen el grupo CHO en el lado de la cadena alifática poseen débil poder curtiente. En sí-

todavía no es posible describir la acción curtiente de los aldehídos sobre una base común, puede ser que la activación de los grupos aldehídos por los grupos adyacentes, sea la causa de este comportamiento; de los aldehídos hacia las proteínas.

CURTIMIENTO CON FORMALDEHIDO (F)

a) Aspectos generales de la reacción.- Debido a la fijación de F con colágeno la intensidad de grupos ácidos es incrementada, probablemente como un resultado de la inactivación de grupos básicos por F, y el rompimiento de la compensación interna de grupos electrovalentes.

Entonces el alcalí "atado" es incrementado y como un resultado directo de la inactivación de los grupos básicos la capacidad de fijación del ácido decrece; el punto isoeléctrico de la gelatina y del colágeno es desplazado una unidad de pH hacia el lado ácido debido al curtido con F.

b) Participación de los grupos de licina.- El desarrollo de un método cuantitativo para la determinación del F fijado apartir de datos obtenidos indican la principal acción de la reacción, de importancia para la función curtiente de F; al estar localizado el grupo E amino del residuo de licina, se considera que el efecto curtiente es un resultado de la formación de eslabones entrecruzados por medio de F; la fijación máxima de F a un valor máximo de pH en el rango mencionado es la cantidad de 0.4-0.5 milimoles de F por gramo de colágeno. La formación de uniones entrecruzadas de $-CH_2-$ entre los grupos amino adyacentes sobre diferentes cadenas puede solamente requerir la mitad de la cantidad de F fijado, éste punto es acentuado por Nitschman y Hadorn y por French Edsall. Se nota así mis-

mo que dos grupos amino de diferentes cadenas peptídicas pueden aprovecharse uno a otro para la formación de puentes de metileno, Nitschman y Hadorn de la reacción de F con caseína concluyen que el eslabón entrecruzado tiene lugar por la formación de puentes de $-CH_2-$ entre un grupo E-amino y el grupo imino del eslabón del péptido de cadenas adyacentes; esto está de acuerdo cuantitativamente con la razón de un F unido a un grupo NH_2 del colágeno, el máximo F contenido en la zona de estabilidad ($pH7-8$).

c) REACCION DE GRUPOS ARGININA.

El papel del grupo guanidilo del residuo de arginina para la fijación de F, en solución de pH' de valor final tan grande como 8, indicado por las investigaciones de Highberger Salcedo es interesante desde el punto de vista de los altos valores del pK , de éste residuo en la muestra de aminoácido (pK cercano a 13); el cual se puede requerir para la reacción con el grupo guanidilo descargado. Es notable el pH de la reactividad de los grupos amino en la lisina ($pH5-8$) y el pK de la muestra del aminoácido ($pK9$), parece probable que el medio ambiente iónico de los grupos de proteína, también como el efecto de F puede cambiar el valor del pK de ese aminoácido considerablemente, el cambio del equilibrio de los grupos NH_3^+ NH_2 debido a la inactivación de los grupos NH_2 por F. El F fijado por los residuos de arginina no estabiliza la estructura de la proteína; entonces debe ser demostrado que el colágeno de aminado reacciona con F a pH 11-13, aunque fija 0.4-05 moles de F por gramo de colágeno; retiene la disminución de la temperatura del pellejo original deaminado y es más extensivamente "abultado" por ácidos fuertes y considerablemente menos resistente.

En vista de las posibilidades de las uniones entre cruzadas por F de los grupos guanidina y licina, ocurre que en muestras prototipos y estrictamente basados en la carencia de estabilización, prueba la ausencia de uniones entrecruzadas entre residuos de arginina; la fijación en un rango de PH bajo remueve parcialmente grupos de guanidilo éstos grupos no decrecen la estabilidad hidrotérmica del colágeno curtido por F a un pH óptimo, apuntando la no participación de grupos guanidilo en la estabilización del colágeno por F. En la práctica el curtido en el rango pH 5-8 es generalmente preferido éste rango forma la zona mínima de inchamiento del colágeno y la afinidad del colágeno para Formaldehído.

La fijación de F por colágeno en un rango de pH 1-3 es una reacción lenta probablemente por la descarga gradual de grupos NH_3 de acuerdo a:

$\text{NH}_3\text{---NH}_2 + \text{H}$ el curtido de colágeno por F está relacionado con los grupos E-ámimo de los residuos de lisina.

IV) CURTIDO CON QUINONA.

El remarcado poder curtiente de la p*benzoquinona fue descubierto hace 40 años por Meunier y Seywetz, en la naturaleza de sus investigaciones del uso de fenoles óxidados, como revelador fotográfico y agente endureciente para películas de gelatina; el curtido de quinona fue investigado por Thomas y Kelli éste efecto, sobre subsecuente curtido vegetal. Así mismo Hilper y Brawns investigaron el principio de la reacción de quinona con colágeno que fue establecido por medio de la preparación de muestras prototipos; que, involucran reacciones entre quinonas y varios compuestos amino y por el estudio del actual proceso curtiente.

Los hechos establecidos del curtido con quinona son:

La Benzoquinona en solución alcohólica muestra similitud a F, - el monomero es evidentemente el agente curtiente en éste caso; en soluciones acuosas de valores de pH menores que 7 el colágeno fija el monomero in crementando la acidez mercadamente y baja el grado de fijación en soluciones ligeramente alcalinas.

Las quinonas polimerizadas participan en la reacción en prolongados curtimientos, la formación y fijación de tales productos de polimeriza ción ocurren así mismo en soluciones a pH menores que 7; En la reacción - de quinona con colágeno en soluciones de pH mayores que 8, los productos - polimerizados son los que principalmente intervienen.

El estudio de compuestos modelo por Hilpre y Brauns indica que - la antigua concepción de la reacción que involucra a los grupos -CO/como - grupos activos del curtimiento es incorrecto; parece ser más favorable pre feriblemente la formación de compuestos del tipo.



Este compuesto está soportado por el hecho de que la cloro tetraquinona está desprovista de poder curtiente.

La quinona curtiente puede ser como sigue:

1).- En una reacción rápida del monomero con los grupos amino del colágeno, predominan el medio neutro y ligeramente ácido.

2).- Una reacción relativamente lenta de quinona polimerizada en solución alcalina, probablemente la colocación de productos de altos peso molecular a los grupos péptidos del colágeno; así parece ser que está reacción ocurre como una fijación secundaria, está dudosa éste tipo de interacción resultante en el curtimiento.

Una impregnación mecánica con productos preformados y por medio de sustancias polimerizadas "in situ" así mismo tiene que ser probado; en la disminución de la temperatura ésta es elevada a cerca de 25°C para la quinona curtiende bajo condiciones óptimas a pH 6, enseguida la quinona es superior a F en este respecto.

APLICACIONES DEL COLAGENO

La gelatina es uno de los usos más extensos del colágeno, esto es debido a que las propiedades de la gelatina se prestan para algunos productos, estas son únicas y no pueden ser duplicadas por cualquier otro hidrócoloide.

DEFINICION DE LA GELATINA.- Está definida por la U.S. Farmacopes (1965): Como un producto obtenido por la hidrólisis parcial del colágeno derivado de la piel con tejidos conectivos y huesos de animales; el hecho de que la gelatina sea obtenida con relativa facilidad y pureza a partir de abundante material de desecho, probablemente tiene mucho que ver con el hecho de llegar a hacer la proteína clásica del coloide químico. De todos los hidrócoloides comunes y naturales es el de la gelatina la proteína de mayor importancia; la proteína de soya tiene también una importante gelificación, especes y viscosidad además de otras propiedades coloidales, la albúmina de huevo una proteína relativamente vieja con alguna propiedad funcional, la cual permite usarse en una variedad de alimentos, los Caseinatos que es una proteína de la leche hace un efectivo emulsificante y tiene propiedades estabilizadoras, las proteínas de los cereales son agentes ablandadores, sin embargo el hidrócoloide más importante es el de la gelatina.

ANTECEDENTES.

La gelatina deriva del verbo latin gelarse que significa congelado, esto fue conocido ya hace más de mil años, el arte de cocinar cueros - data de los tiempos de los faraones de Egipto. (Bogue 1922)

Skakespeare y Bacon hacen referencia al encolado.

En 1970 se establece una industria de encolado en forma comercial en Inglaterra, por la época de Napoleón en los Estados Unidos la gelatina es manufacturada en gran escala como una respuesta a la carestía de alimentos. La primera patente sobre gelatina comestible se acredita a Arney en 1846 en la cual explica la preparación de una gelatina poderosa, de la cual por formación y composición pueden ser preparadas jaleas; así mismo mezcladas con almidón o féculas vegetales para espesar sopas finas.

También se han encontrado aplicaciones más recientes de la gelatina para emulsiones fotográficas y; micro y macro encapsulaciones en productos farmacéuticos.

Aunque existe una variedad de gelatinas, se considera que todas las gelatinas tienen una función similar en cuanto a propiedades, existen algunas diferencias que están en función del tipo de colágeno, estas diferencias son mostradas en la tabla siguiente:

CARACTERISTICAS DE GELATINA

CARACTERISTICA	TRATAMIENTO ACIDO	TRATAMIENTO ALCALINO
HUMEDAD	8-12%	8-12%
pH	3.8-5.5	5-7.5
PUNTO ISO ELECTRICO (pH)	7-9	4.7-5.1
INTENSIDAD DE GEL (BLOOM)	50-300g	50-275g
VISCOSIDAD	20-70mps	20-75mps

TABLA II

COMPOSICION DE AMINOACIDOS EN DIFERENTES GELATINAS G/ 100 g de GELATINA).			
AMINOACIDO	TIPO A (%)	TIPO B (%) PIEL	TIPO B (HUESOS) (%)
ALANINA	8.6-10.7	9.3-11.0	11.3
ARGININA	8.3-9.5	8.55-8.8	9.0
ACIDO ASPARTICO	6.2-6.7	6.6-6.9	6.7
CISTINA	0.1	Ninguna Traza	Trazas
ACIDO GLUTAMICO	11.3-11.7	11.1-11.4	11.6
GLICINA	"26.4-30.5	26.9-27.5	27.2
HISTIDINA	0.85-1.0	0.74-0.78	0.70
HIDROXILISINA	1.04	0.91-1.2	0.76
HIDROXIPROLINA	13.5	14-14.5	13.3
ISOLEUCINA	1.36	1.7-1.8	1.54
LEUCINA	3.1-3.34	3.1-3.4	3.45
LISINA	4.1-5.2	4.5-4.6	4.36
METIONINA	0.80-0.92	0.80-0.90	0.63
FENILALANINA	2.1-2.56	2.2-2.5	2.49
PROLINA	16.2-18.0	14.8-16.35	15.5
SERINA	2.9-4.13	3.2-4.2	3.73
TREONINA	2.2	2.2	2.36
TIROSINA	0.44-0.91	0.2-1.0	0.23
VALINA	2.5-2.8	2.6-3.4	2.77

COMPOSICION QUIMICA DE LA GELATINA.- La gelatina consiste de 19 - aminoácidos, unidos por uniones péptidicas hasta formar grandes cadenas de polímeros, da una reacción típica de proteínas y puede ser hidrolizada por cualquiera de las enzimas proteolíticas, para producir sus contribuyentes-compuestos aminoácidos o peptídicos.

La gelatina no es una proteína nutricionalmente completa ésta no contiene el aminoácido esencial TRIPTOFANO, sin embargo contiene pequeñas cantidades de aminoácidos raros como la HIDROXILISINA, la gelatina procedente de diferentes fuentes exhibe pequeñas variaciones en la composición - de aminoácidos, (VER TABLA II) la variación en la estructura química entre el tipo A y tipo B de gelatina produce diferencias en las propiedades físicas incluyendo el punto isoiónico e isoeléctrico.

La gelatina es una sustancia anfóterica que contiene grupos carboxilos ácidos y grupos amino básicos, la carga completa de la molécula - depende del pH de la solución y de otros iones presentes.

El pH a la cual la ionización de ambos grupos ácidos y básicos - ocurre, es llamado punto ISOIONICO (PI) en este punto la carga neta es cero, si se añaden electrolitos a la solución podrá cambiar a un nuevo pH , éste-nuevo pH es conocido como punto ISOELECTRICO (IEP) y es definido como el - pH al cual las moléculas de gelatinas no emigran en un campo eléctrico, - (porque ellas son cargas neutras en ese punto) en algunos casos el PI y el IEP son idénticos.

VARIANTES ENCONTRADAS EN LA GELATINA

CENIZAS.- Varias cenizas son producidas por las gelatinas del tipo de material crudo, la manufactura del tipo A o gelatina de piel de cerdo contiene pequeñas cantidades de cloruro, y la gelatina de osseina contiene fosfatos de calcio, la U.S.P. limita sobre cenizas el 2% pero en general la gelatina comercial tiene bajo contenido.

CONTENIDO DE METALES

Esto está rigidamente controlado y la presencia de metales en gelatina es variable la U.S.P. limita para Arsenio 1 ppm, y para metales pesados 50 ppm.

CONTENIDO DE DIOXIDO SULFUROSO

La adición de dióxido sulfuroso a la gelatina de cápsula da daureza e incrementa la transparencia, brillantes y estabilidad la U.S.P. permite no más de 0.004% de dióxido sulfúroso, éste no es usado en el consumo de alimento normal.

ADITIVOS ORGANICOS

En muchas formas afectan los materiales orgánicos a las gelatinas los aldehídos tienden a entrecruzar las moléculas de la gelatina resultando polialdehídos de reducida solubilidad o incrementada viscosidad; los agentes saborizantes contienen aldehídos que pueden usarse en productos de gelatina, pero la concentración y estabilidad son determinadas por pruebas específicas, materiales inertes tales como azúcares no son problema

pero algunas veces hay interacción entre sacáridos y proteínas; ocurren - reacciones de obscurecimiento.

PROPIEDADES FISICAS.

a) SOLUBILIDAD.

La gelatina es insoluble en agua fría pero ésta se hincha al contacto con el agua y forma partículas grandes abultadas conocidas como - "ojos de pescado", si el agua está caliente a 160°F la gelatina se hidrata y se hace una solución, haciendo la ruptura de las moléculas agregadas o - micelas.

Hablando estrictamente una dispersión coloidal macromoléculas es formada para prevenir el fraguado a gel. En 120°F la gelatina tiende a hacer una gel; aunque la gelatina es soluble en alcohol polihidrico tal como: sorbitol, manitol, propanol y glicerina; el agua está presente como solvente accesorio, la gelatina es prácticamente insoluble en etanol, acetona y solventes no polares, tales como tetracloruro de carbono, petróleo, éter y disulfuro de carbono.

b) VISCOSIDAD.

La viscosidad producida, de la gelatina en solución de agua es la propiedad más importante; la gelatina comercial varia en viscosidad entre 20 y 70 mp; la distribución del peso molecular es muy importante en este efecto sobre la viscosidad, que sobre la intensidad de gel, una gelatina - de alto bloom, podrá tener baja viscosidad, la muestra de la más baja intensidad de gel demuestra que la intensidad de gel y viscosidad no son directamente proporcionales.

En soluciones diluidas de sales frías la viscosidad de la gelatina es mínima.

c) TURBIDEZ.

La turbidez puede ser causada por muchos factores, podrá ser causada por la confusión isoelectrica, la cual ocurre cuando el pH de una solución es cercana al punto isoelectrico. En éste punto la hidratación de las partículas de gelatina es mínima y opticamente la del sistema resulta heterogeneo, esta condición puede ser minimizada o eliminada por ajuste de la concentración de la gelatina o ajustando el pH arriba o más abajo según el rango del punto isoelectrico. Otra causa del sistema de turbidez, es el uso del sistema de mezclado de gelatina del tipo A y tipo B, a valores del pH entre 5-7. La turbidez podrá resultar dependiente sobre la razón del mezclado y el valor del PH exacto.

d) INTENSIDAD DE GEL (BLOOM).

La formación de gel reversible en calentamiento, es probablemente la más importante propiedad de la gelatina, la formación de gel se cree que resulta de la propiedad de los puentes de hidrógeno de las moléculas de la gelatina, para formar micelas, las cuales resultan en la formación de un gel semimolido, las cuales estan ligadas a los componentes del agua; la intensidad del gel es usualmente medida con el gelómetro de bloom, que es el instrumento estandar para la industria. El procedimiento simple es: 6.66% de solución de gelatina es puesta cuidadosamente en un recipiente y preparado de manera standart y es enfriado a $10 \pm 0.1^\circ\text{C}$ por $17^{\pm 1}$ horas, en este punto la firmeza de la gel es medida con el gelómetro. Las gelatinas comerciales varian de 50 a 300 bloom, las gelatinas con cero bloom son hechas para aplicaciones especiales.

La intensidad de gel en la gelatina es afectado por un gran número de factores incluyendo el pH y la presencia de electrolitos no electrolitos y otros aditivos, en la gelatina tratada con ácido hay una más rápida intensidad de gel en la región de pH bajos; que los que datan de los materiales tratados con alcalí, éste es causado por la diferencia en su punto isoeléctrico, la gelatina de piel de cerdo a un pH entre 2 y 3 está más removida del punto isoeléctrico y está mucho más altamente hidratada.

Materiales como la urea ejercen una influencia peptizantesca en la formación de estructuras de gel y en grandes concentraciones previene enteramente la formación de geles en la gelatina, el efecto de la urea es probablemente una de las interferencias con los puentes de hidrógeno, necesarios para la formación de gel, el efecto de: acidez, alcalinidad; calentamiento y enzimas proteolíticas es esencialmente una hidrólisis, la estructura de la gelatina es completamente rota y así no forma una gel.

e) PRESERVACION.

Las soluciones de gelatina son materiales para cultivar microorganismos y bacterias, a menos que se tomen medidas preservativas; los tipos de organismos prometedores de cultivo sobre gelatinas dependen primeramente sobre el pH . Dependiendo de las condiciones y constituyentes de un producto, varios preservativos pueden ser añadidos para prevenir deterioraciones en la gelatina, los más comunes son ácido benzoico, alcohol, cloruro de cetil piridinio y otros compuestos.

PROPIEDADES DE GELACION Y MECANISMOS

a) Hipótesis de la estructura de una gel.

Las geles son sistemas en las cuales pequeñas proporciones de un sólido son dispersados en relativas grandes proporciones de un líquido, - ellos tienen la propiedad de rigidez mecánica o la habilidad de soportar - tensiones en descanso, esta característica es común en todas las geles la - rigidez en una gel es remarcable y consiste mayormente de fluidos, su comportamiento como un sólido rígido y la retención como compresibilidad, - presión de vapor y conductividad eléctrica.

Algunas hipótesis son propuestas para explicar la naturaleza de - la estructura de la gel, las siguientes son las más importantes:

1) La inmovilización del solvente a través de la absorción por el soluto.

2).- La presencia de cadenas tridimensionales de soluto.

3).- La operación de fuerzas en grandes rangos entre las partículas del soluto.

El tipo de estructura más conveniente de la proteína gel, en gelatina es la cadena tridimensional, la cual se encuentra unida por uniones - primarias y fuerzas secundarias, localizadas en ciertos puntos de la molécula, el incremento de la viscosidad nos manifiesta la formación de una - nueva cadena, debido a un incremento en el número de eslabones incrementa la rigidez.

La adición de electrolitos tales como cloruro de sodio bajan al punto de fusión de geles de gelatina, otras como el sulfato de sodio levantan el mismo, el orden de menos efectividad de los cationes y aniones va en depresión del punto de fusión, la depresión es la más marcada para sales de litio y tiocianato.

En la formulación de la gelatina comestible, una típica formulación es hecha publicada por la GELATIN MANUFACTURER, INSTITUTE OF AMERICA-1962.

GELATINA.....	8-12%
ACIDO.....	2.3 %
SAL BUFFER	0.6-1%
SAL.....	0.3 %
SABOR.....	q.s.
COLOR.....	q.s.
SACAROSA.....	100 %

Para reducir el tiempo de fraguado tentativamente fue hecho por Cohen, quien incorporo una enzima proteolítica.

En cuanto a las sales Boffer se incorporan a la mezcla para obtener el pH deseado y así controlar el fraguado y las características de fusión, las sales más comunes son citrato de sodio y fosfato de sodio y el pH de la gelatina se mantiene entre 3-4, sales como cloruro de sodio son usadas para realzar el sabor en los postres, pero esto no es funcionalmente necesario. El azúcar ha sido reemplazada por edulcorantes artificiales no nutritivos.

CONFECCION DE PRODUCTOS ESPUMOSOS.- Cuando el aire se introduce en un sistema líquido se produce una fase llamada espuma; en la industria-confeccionaria la espuma de éste tipo puede ser estabilizada por la incorporación en la mezcla de ciertas proteínas conocidas como agentes batidores, los más usados son: Albumina de gelatina, y proteínas como albuminas de soya, caseína, albumina de pescado y algunas especialidades como albumina de plasma de sangre.

En la producción de productos confeccionarios espumosos muy comunes, la cantidad de aire incorporado gobierna la textura del producto. La gelatina se usa en gran variedad de malvaviscos y productos alimenticios de panadería; el uso de la gelatina en éstos productos está basado principalmente, sobre la habilidad para estabilizar sistemas airados. La viscosidad de las soluciones de la gelatina promueve la dispersión del aire en los jarabes azucarados, en la cual estan basados estos productos.

MALVAVISCOS.- Prácticamente son tradición en América y la gelatina es muy importante en la producción de malvaviscos (ANONIMO), la gelatina baja la tensión superficial del jarabe de azúcar, así mismo estabiliza los malvaviscos espumosos por decrecimiento o incremento de la viscosidad, los malvaviscos son preparados por espuma del batido y calentamiento del jarabe; el fraguado de los malvaviscos contienen de 1.5 a 2.5% de gelatina, por lo regular se utiliza una gelatina de 225 bloom.

En otras confecciones es usada la gelatina, en la manufactura de caramelo; la adición de la gelatina fue hecha para retener la humedad.

ESTABILIZACION DE HELADOS.

El estabilizador más usado e importante fue; la carboximetil celulosa, hoy se estabiliza con compuestos de gelatina blanda, ésta "ata" una-
porción de agua libre en los helados, aquí la formación de redes cristali-
nas de los helados una buena textura comible.

LA GELATINA EN PRODUCTOS DE CARNE.

El propósito de la gelatina es de absorber los jugos de carne, la gelatina preserva la apariencia natural y textura de productos cocinados.-
En jamones procesados, el procedimiento normal es: añadir una parte de ge-
latina fría a 50-75 partes de jamón éstos son cosidos enchilados y almace-
nados; antes de envolverse son mojados en la solución de la gelatina, en -
esta forma retiene la agradable apariencia y no gotea el jugo, en general-
una gran variedad de alimentos son revestidos con propósitos protectivos -
de gelatina; frijol, café, huevo, pescado, etc.

Algunos sabores en pequeñas cantidades incrementa su intensidad -
con la gelatina.

MACRO ENCAPSULACION.

El uso de la gelatina para la encapsulación de sabores fue cono-
cido hace años, en los productos comerciales fueron incluidos sabores cí-
tricos y mezclas de rellenos empastelados, con sabores de aceites cítricos
encapsulados; una gran cápsula de gelatina suave protege oxidaciones y de-
teriorizaciones de sabores, así:

Un pollo para sopa deshidratado fue manufacturado con una cápsula de gelatina, conteniendo grasa el pollo y protegido de la rancidez.

MICRO ENCAPSULADO.

Uno de los avances tecnológicos más sofisticados, en las aplicaciones de la gelatina, es un nuevo campo comparativo; el campo de la micro encapsulación, es un nuevo concepto de empaquetamiento de materiales en cápsulas microscópicas, sean sólidos o líquidos, a través de varios rangos de tamaños: Se especifica como micro encapsulación standart el tamaño arriba de $1/125$ de una pulgada en diámetro; la protección que da la micro-encapsulación es única, y la gelatina es utilizada en éste campo por el mecanismo de coaservación, recubriendo globulos de aceite o particulas sólidas; ésto es hecho por cambios controlados del: pH temperatura y concentración de soluciones de gelatina, conteniendo globulos dispersados de aceite; una solución de sulfato de sodio u otras sales menos efectivas, reducen la solubilidad de la gelatina y causa conservados alrededor de la superficie de los globulos suspendidos de aceite y eventualmente precipita fuera de la solución las microcápsulas y es cuando pueden ser separadas, secadas y tratadas con sólidos granulares. Coaservados complejos toman lugar cuando dos cargas opuestas macromoléculares reaccionan para formar un-coacervo insoluble que podrá reaccionar con goma arabiga en solución, para formar coacervados que serán depositados alrededor de gotas de aceite dispersas para producir un microencapsulado individual. En las siguientes esferas libres, los parámetros importantes son: La concentración de la gelatina, goma arabiga y agua (Anónimo 1962).

GELATINA FOTOGRAFICA.

Esta tiene varias funciones: 1) Como un coloide protector que - conserva la dispersión de los haluros de plata, probablemente debido al revestido de la superficie.

2) Como un soporte mecánico para el haluro de plata.

3) Como un factor que afecta la sensibilidad de la plata.

4) Como removedor de la liberación de alogenos por la acción de - la luz sobre el cloruro de plata.

Un importante problema, es el efecto de la gelatina sobre la sensibilidad de los granos de cloruro de plata, ésto fue conocido hace tiempo para un cierto tipo de gelatina y; que son oportunas para películas fotográficas.

En 1920 se consideran buenas fuentes para determinar el "secreto" de la buena gelatina fotográfica, la química fotográfica ha llegado ha estar más y más convencida de que una sensitiva substancia está presente, - ésta substancia ha llegado a investigarse en varias formas, ya sea en pleno proceso en la manufactura de la gelatina y hasta en los residuos obteidos, ésto fue examinado por una química complicada de extracción y precipitación; se lleo a creer en base a esto que la sola presencia del sulfuro- era la responsable. La substancia responsable fue finalmente aislada y se demostró que esta está aliada con el isotiocianato, o tiocarbamida en el - caso de la tiocarbamida, a partir de un compuesto de adición el cual es - convertido a sulfuro de plata, la confección de la emulsión, los incremen-

tos de los sulfuros de plata o haluros de plata incrementan la sensibilidad de la película; ha llegado a hacer evidente que la cantidad de sulfuro en la gelatina existe en varias formas, algunas de las cuales incrementan la sensibilidad. Así aparte del contenido de compuestos sulfodrífls libres la presencia de tiocompuestos y compuestos del tipo imosoles gobiernan las propiedades fotográficas.

REQUISITOS PARA UNA GELATINA FOTOGRAFICA.

La gelatina difiere poco de la condrina que se obtiene del tejido cartilaginoso, pero tiene un poder gelatinizante muy superior al de esta substancia, siempre tiene algo de condrina, y cuando la proporción de esta substancia es elevada pierde mucho su valor, especialmente para la preparación de emulsiones fotográficas.

Una forma de ver si la gelatina sirve a groso modo para trabajos fotográficos consiste en añadir, una solución concentrada de alumbre a otra al 10% de gelatina en agua caliente, sin embargo las gelatinas fotográficas contienen algo de condrina aunque poco. Para apreciar las cualidades de gelatina especialmente para fotográfica son de utilidad, los siguientes ensayos y propiedades:

1) Las cenizas EDER varían desde .5% en las variedades buenas al 5% en las inferiores y 10% en las adulteradas, pero ABNEY dice que una gelatina excelente para fotografía contiene a veces hasta 2.5% de cenizas.

2).- Una buena gelatina absorbe al ponerla en remojo de 5 a 10 veces su peso de agua fría cantidad suficiente para disolverla si se calienta a 30 grados centígrados.

3).- La solubilidad de las gelatinas varia considerablemente la - Nelson No. 1 se disuelve en agua a temperatura ambiente en tiempos caluro- - sos y apenas si s \acute{o} lidifica a 24°C, muestran que la "etiqueta dorada" de - (Igney) s \acute{o} lo se disuelva unos 43.5°C y solidifica r \acute{a} pidamente. Para las - emulsiones fotogr \acute{a} ficas ordinarias ABNEY recomienda una mezcla de gelatina - blanda y dura en proporciones que dependen de la temperatura ambiente; - una buena composici \acute{o} n es formulada de una parte de la primera por tres par - tes de la segunda, a \acute{n} adiendo alcohol a la soluci \acute{o} n las materias grasas se - separan con preferencia espumando el l \acute{i} quido o dejando que forme j \acute{a} leas y - separando la capa superficial. Tambi \acute{e} n sirve la gelatina para hacer mol- - des e impresiones para ELECTROTIPIA en fotograf \acute{a} se emplea no s \acute{o} lo para - las placas secas sino tambi \acute{e} n para los papeles al carbon, para positivos - que estan fundados en la propiedad que posee el dicromato pot \acute{a} sico de ins \acute{o} - lubilizar la gelatina cuando ha sido expuesta a la acci \acute{o} n de la luz, ésta - propiedad se emplea tambi \acute{e} n para hacer una cola insoluble o un material - impermeabilizante a \acute{n} adiendo dicromato a la cola a gelatina momentos antes - de usarlos. **Se utiliza** tambi \acute{e} n en tintorer \acute{a} para hacer los rodillos de - tinta de imprimir.

NORMAS OFICIALES

Es interesantes saber que hay en nuestro país sobre algunas normas, que son rutinarias en otros países, como en el caso de la gelatina - que es un derivado primario del colágeno. El uso de la gelatina como alimento y uso su preparación casera y clandestina, hace necesario establecer normas que limiten, y mejoren este productos en el mercado. Las siguientes investigaciones fue lo que se pudo recopilar en dos organismos bastante serios en nuestro país, en primer lugar S.I.C. (Secretaría de Industria y Comercio), y S.S.A. (Secretaría de Salubridad y Asistencia).

ALGUNAS LIMITACIONES SOBRE GELATINA PREPARADA PARA POSTRE APROBADA POR LA S.I.C. EN LA SECCION DE PRODUCTOS ALIMENTICIOS CON FECHA 11 DE AGOSTO DE 1954, EN EL ACTA # 292, FOJA 213-216 TOMO V. CLAVE F-41-1954.

SECRETARIA DE ECONOMIA

DIRECCION GENERAL DE NORMAS, NORMA OFICIAL DE CALIDAD DE LA GELATINA PREPARADA PARA POSTRE.

DEFINICION Y GENERALIDADES

A.- DEFINICION.

Se entiende por gelatina preparada para postre, el producto alimenticio semi-terminado, formado por la mezcla de gelatina pura comestible, azúcar, sabores de frutas y colores.

A.- CLASIFICACION.

Para los efectos de ésta norma, la gelatina preparada para postre será de un sólo grado de calidad.

B.- ESPECIFICACIONES.

MATERIA PRIMA.- La gelatina comestible será de la mejor calidad, el azúcar empleada será refinada y estará en forma granulada o pulverizada los colores, sabores, esencias serán los permitidos por la S.S.A.

a.- En el productos final los ingredientes deberán estar completamente mezclados.

b.- El productos final pasará completamente por un tamiz de 30 mallas X 2.54 cm.

c.- La húmedad no será mayor de 5%, se permitirá la formación de un panecillo.

d.- La fuerza gelificante no será mayor de 24 grados Bloom.

e.- Porcentaje de cada uno de los ingredientes.

GELATINA PURA	---	9%
SACAROSA	85%	--
ACIDEZ (EN ACIDO CITRICO)	9%	--
COLORANTE (1)		

(1) El colorante se encontrará en la cantidad suficiente para - producir el color del postre preparado según se especifica en la etiqueta.

METODOS DE PRUEBA

A.- MUESTREO

1.- Lote de entrega.- Es la cantidad total de gelatina preparada motivo de la transacción comercial.

2.- Lote de prueba.- Está formado por la raíz cuadrada del número de unidades del lote anterior.

3.- Lote de muestra.- Está formado por tres partes de 250 gr cada una tomada al azar del lote de prueba, una para el vendedor, otra para el comprador y los siguientes para casos de terceros.

PREPARACION DE LA MUESTRA

El productos se cierce a través de un tamiz de 30 mallas y 2.54 - cm, esta operación se repite por lo menos dos veces, el tamizado se recoge en un recipiente de vidrio, hule o cualquier otro material que no absorba la humedad. Se debe operar lo más rápidamente posible y conservar la muestra en un recipiente herméticamente cerrado.

B.- DETERMINACIONES FISICAS Y QUIMICAS

1.- HUMEDAD de la muestra antes dicha se toman de 2 a 5 gr y se - colocan en una cápsula de metal (níquel, platino, aluminio) provista de -

una tapa, la desecación se realiza a una temperatura no mayor de 60°C durante 2 horas, la presión no debe ser mayor a 50 mm de Hg, se saca de la estufa tapando primero el disco se coloca en el desecador para enfriar, después de lo cual se realiza la primera pesada, se somete a la desecación bajo las mismas condiciones antes anotadas. Durante una hora se enfría y se pesa nuevamente, la operación se repite hasta que la variación en el peso no sea mayor de 2 mg.

NOTA.- Por la estufa pasará una corriente de aire seco con el objeto de remover el vapor de agua formado.

CALCULO DEL % DE HUMEDAD

$$\frac{100 \cdot B}{A} = \% \text{ DE HUMEDAD};$$

Donde A= peso de la muestra húmeda en gramos.

B= diferencia entre el peso de la muestra húmeda, menos el peso de la muestra seca.

FUERZA GELIFICANTE

METODO DEL GELOMETRO DE BLOOM.

Aparatos empleados; Gelómetro de Bloom.

FRASCO DE BOCA ANCHA, el frasco cumplirá con los requisitos siguientes:

Capacidad 155 ml

Diámetro del cuerpo:

Interior 59 mm

Exterior 66 mm

Altura total 85 mm

PROCEDIMIENTO:

Pesar 20 g de la muestra en polvo trasvasarla, cuantitativamente al frasco de prueba M fig 1 se añaden 100 ml de agua destilada a una temperatura de 15°C aproximadamente, mezclar bien la gelatina empleando una varilla delgada de metal, dejar el frasco durante 3 horas a una temperatura de entre 10° a 15°C con el objeto de beber la gelatina.

Coloque el frasco durante 15 minutos en baño de agua a 30°C calentar el baño hasta 60°C, no deberá exceder de 70°C, la temperatura se controla con un termómetro colocándolo dentro de la solución de la gelatina sostenido por medio del tapón del frasco, el tiempo necesario para alcanzar dicha temperatura no debe ser mayor de 15 minutos, se cierra el frasco con el tapón que lleva el termómetro y antes de alcanzar la temperatura final se hace homogénea la solución invirtiendo varias veces el frasco; evitando cualquier movimiento que produzca agitación violenta de la solución, enseguida se coloca el recipiente en un baño a una temperatura constante de - 10 C más o menos 0.1°C durante un período de 16 horas; cuando se prolongue el tiempo éste no será mayor de 18 horas.

La determinación de la fuerza geleficante de la muestra es llevada a cabo empleando el aparato de la fig. 1 ajustado para dar la depresión de 4 mm y liberar el perdigón a una velocidad de 200 g por 5 seg. cuando el brazo de la cubierta en forma de almeja descansa sobre la grapa DL las indicaciones precisas acompañan a cada aparato.

CALIBRACION DEL GELOMETRO

El gelómetro deberá permanecer perfectamente nivelado sobre un soporte rígido, para nivelarlo se gira el tornillo de mano GL hasta que el disco de plata este arriba del punto de contacto A2 por medio de los tornillos de nivelación T1 y T2, ajustar la base R1, en tal forma que la varilla H3 cuelgue en el centro del agujero en el brazo de guía J2A. El punto de contacto de la mensula A debe ser colocado en tal forma que no esté en contacto interior con la varilla H3, ni debe estar en contacto con los tornillos pertenecientes a J2A, no cambiar la posición de J2A así que debe ser guardada directamente abajo del punto de suspensión del resorte F, el resorte P presentará una rigidez tal que cuando se coloque de 2 ó 3 g sobre la plataforma H2 llevará el disco B desde el contacto al contacto A2, cuando se coloca adecuadamente, una ligera vibración del instrumento causará una sucesión de sonidos que semejan el ruido del telegrafo.

Para hacer una prueba de la fuerza gelificante de la muestra dada, se cierra el circuito por medio del switch Q, la gelatina contenida en el frasco M se centra sobre la plataforma N1, por medio del piñón y cremallera del mecanismo de elevación N2, colocarla hasta que el disco B este haciendo contacto con el punto A1.

Con el ajuste fino del piñón y cremallera N3 afinar la posición de dicho disco con el punto A1.

Esto es indicado por el chispazo y sonido telegráfico, el recipiente del perdigón K es rápidamente colocado sobre la plataforma H2 y el brazo E4 es elevado inmediatamente a la posición P redeterminada sobre la-

grapa D1 haciendolo con un movimiento rápido y uniforme, la altura a la -
cual el brazo E4 es elevado regula la velocidad del flujo del perdigón, -
el émbolo deprime la superficie de la gelatina hasta que el disco B hace -
contacto A2.

Esto cierra el circuito que actúa sobre el electro-magneto C, mo-
viendo la barra de hierro B3 y restirando el soporte de la grapa del brazo
E4, el cual cae inmediatamente cortando el flujo del perdigón por la sepa-
ración de E-E1, el peso del perdigón liberado en el recipiente K más el pe-
so del receptáculo es el peso necesario para mover el émbolo a la distan-
cia prescrita de acuerdo con la fuerza gelificante de la muestra. Después
que se ha determinado el peso del receptáculo y el perdigón este es regre-
sado a la tolva, quedando el instrumento listo para otra prueba, todas las
pruebas se haran empleando la grapa D-L expresandose los resultados en -
grados Bloom, que serán los necesarios para producir una depresión de 4 mm.

3.- DETERMINACION DE LA SACAROSA.

Reactivos.- Solución de tanino, disolver 5 g de tanino en 100 ml-
de agua fría.

b) Solución de acetato de plomo, disolver 100 g de acetato de plo-
mo en 200 ml de agua esta solución es de 30 Bé.

PROCEDIMIENTO

Coloquemos 13 gramos de la muestra en un matraz de 300-400 ml de -
capacidad añadir 2 gramos de carbonato de calcio 2 gramos de "ayuda filtro"
mezclar empleando una varilla de vidrio. Se añaden 175 ml de agua calien-

te formando con poca agua una nata al principio, se agita totalmente y se deja reposar unos minutos para asegurar la solución, enfriese con agua de 30°C se añaden agitando lentamente 25 ml de la solución de tanino dejando reposar 5 minutos añadir agitando lentamente 10 ml de la solución de acetato de plomo filtrando en papel whatman # 2 de 18.5 cm de diámetro. La cantidad total de líquido empleado es de 210 ml se concentra por evaporación a 200 ml si la precipitación ha sido hecha correctamente la solución debe filtrar fácilmente y el filtrado sera claro.

Polarizar la solución empleando un tubo de 200 mm realizando el experimento a 20°C, si la muestra contiene azúcar, reductor eliminar el plomo con oxalato de potasio, añadiendo "ayuda filtro" y filtrar colocar 50 ml de la solución en matraz aforado de 100 ml agregar 5 ml de HCL reposar durante toda la noche después de la inversión neutralizar con Na OH en solución, empleando fenoftalina como indicador.

Para hacer desaparecer el color del indicador agregar una gota de HCL 0.1 N enfriar la solución a 20°C, aforar, mezclar y polarizar. Usar la siguiente fórmula de Clerget modificada para calcular el porcentaje de sacarosa en las muestras de gelatina.

$$\text{Calculos: } S = \frac{100 (4P-81)}{142.66 + 0.676 (m-13) - t/2}$$

DONDE: S= % de sacarosa

P= Lectura directa de la solución normal

I= Lectura de la solución invertida

T= Temperatura de la cual se hicieron las lecturas

M= Gramos de muestra contenida en 100 ml de solución invertida.

SIMPLIFICADO: $t = 20^{\circ}\text{C}$ y $m = 3.25 \text{ g}$

$$S = \frac{100 (4P-81)}{132}$$

DETERMINACION DE ACIDEZ

REACTIVOS:

Solución de NaOH 0.1 N

Solución de fenoftalina al 1%

PROCEDIMIENTO:

Disolver 20 g de la muestra de 2000 ml de agua destilada recientemente hervida titular 100 ml de la solución empleando Na OH 0.1 N usando - expresar los resultados en % de ácido cítrico.

% de ácido cítrico = $0.7 \times \text{ml Na OH}$.

ANTEPROYECTO PARA NORMA OFICIAL DE GELATINA S. S. A.

PRESENTACION	Gelati- na %.	Agua %.	*Otro liquido %.	Azucar %.	Frutas enteras %.	Sabor artificial %.	Benzo- ato de so- dio %.	Huevo %.	Acido ascorbico %.	Fecula de maiz %.	Acido fumarico %.	Ortofos- fato %.	Acido citrico %.	Prote- ina %.	Color artificial %.
POLVO	MIN.	9.200		76	0.5	0.5								50.60	0.01
	MAX.	14.5		89.8	13.63	5	0.150				2	1.00	1.175	79.75	0.150
PREPARADO PARA SU CONSUMO	MIN.	1.5	71.75	25.01	10.0	0.01		4.68	4.68				0.100	8.25	
	MAX.	10	79.100	78.75	25.0	1.44	0.100	15	15	12			0.300	55	0.1

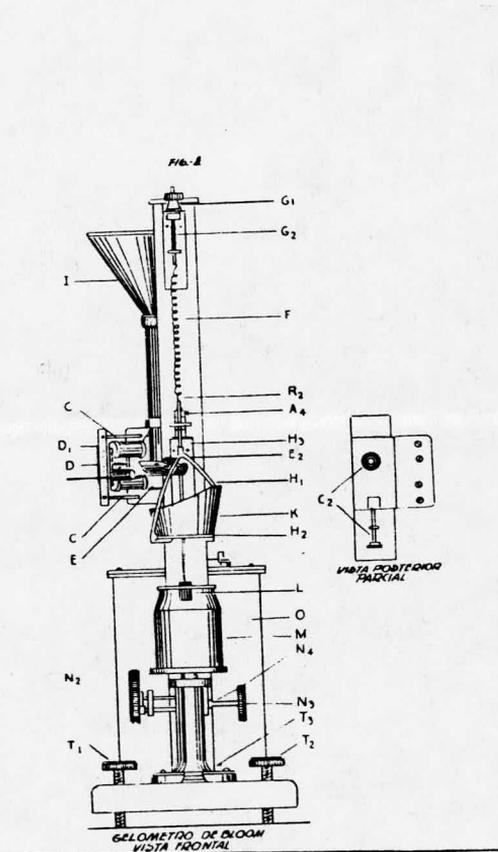
* Otro liquido - Jugo de fruta ó leche

CONSTANTES BACTERIOLÓGICAS

a) Cuenta standard 1000 colonias X 9

b) Cuenta de coliformes y licuantes 0.0 X g de COLAGENO (gelatina).

GELOMETRO DE BLOOM



RESUMEN Y CONCLUSIONES

En la extracción de la gelatina a partir de pieles se ha visto - que es posible disolver el colágeno en una gran variedad de sales neutras- así como de ácidos y bases, la primera extracción obtenida se usa para gra- duar el criterio de la viscosidad en las demás, con la ayuda del gelómetro de bloom.

Prácticamente según la literatura se obtienen por cada 10 kg de - piel tratada hasta 2.336 kilogramos de gelatina; en la extracción las va- riables más importantes son: Tiempo y temperatura, aunque sin olvidar la - concentración del ácido. Las primeras extracciones se hacen a partir de - 60°C y lapsos de cuatro horas, se aumenta la temperatura de 10 en 10°C has- ta 95 grados. A más altas temperaturas no es recomendable hacer extraccio- nes, los tiempos promedio de remojo recomendados por la literatura van des- de 10 a 50 horas.

El proceso alcalino se tarda hasta 12 semanas por lo cual no es - recomendable, además de que el poder gelificante de la gelatina es menor;- es conveniente porque se obtiene el colágeno más puro. La oseina parece - interesante como materia prima ya que puede tratarse por cualquiera de los dos procesos.

En la proteína de la gelatina sus aminoácidos se comportan como - electrolitos anfotéricos ya que contienen grupos amino y carboxilo. En el colágeno aproximadamente 37% de los grupos carboxilo están presentes como- grupos amido (CO-NH_2), que no se ionizan a cualquier pH y no son destrui- dos en el proceso ácido pero en el proceso alcalino se convierten en gru- pos carboxilo.

En cuanto al peso molecular de la gelatina este no está muy bien definido, debido a la ausencia de uniformidad en la gelatina y a los diferentes métodos de obtención del peso molecular, se han encontrado pesos moleculares de:

95.000, 97.000, 110.000, 30.000, 70.000.

El color de la gelatina no está relacionada con el fabricante excepto en gelatinas de baja calidad, el cobre la confiere un color verdoso y el ión férrico un color rojo café, también se le ha atribuido el color, a la oxidación de los aminoácidos particularmente a la tirosina.

La organización moléculas del colágeno es extremadamente compleja y a la fecha ningún tipo de estudio ha dado resultado. Es importante hacer notar que la composición química del colágeno y la gelatina es prácticamente igual aunque las propiedades físicas si difieren.

El resumen podemos decir que las fuerzas que mantienen juntas a las cadenas de polipéptidos de gelatina, son de tres tipos:

- 1.- Los fuertes enlaces covalentes.
- 2.- Los enlaces electrostáticos originados de los grupos eléctricamente polares, en la molécula.
- 3.- Los puentes de hidrógeno.

Juntos son responsables de la estructura organizada; la que produce un patrón cristalino por difracción de rayos X.

El interés sobre normas oficiales en alimentos, principalmente - en gelatina o grenetina me llevó a investigar algunas limitaciones de la - gelatina como alimento. En la Secretaría de Industria y Comercio se - encuentran limitaciones sobre: Fuerza gelificante, humedad, determinación - de sacarosa y ácidos. En S.S.A. me pareció desilucionante encontrar un an - te proyecto y eso basado en normas Argentinas y de la S.I.C., aunque quizá lo más importante es el control de las constantes bacteriológicas, en cuen - ta estandar mil colonias por gramo, y de coliformes y licuafacientes es - cero por gramo de grenetina.

Definitivamente una de las pruebas analíticas para saber si una - muestra contiene colágeno es la difracción de rayos X, debido a la "huella" que se produce. La configuración de la cadena polipeptídica apreciada por - los rayos X; en un modelo de la fibra, se vio que los residuos de los ami - noácidos aparecen en el mismo nivel en cada cadena, las uniones péptidas - se encuentran en posición Cis-trans-Cis y; el reareglo de aminoácidos - Gli-Pro-X, donde: X es cualquier otro residuo como prolina o hidroxiprolina, Ramachandran y Kartha proponen una estructura de tres cadenas equiva - lentes enrollada cada una en un eje, en vez de uno común como lo propusie - ron Rich y Crick.

En base a una serie de modelos se puede decir que actualmente, se acepta que las fibras del colágeno forman una red entre cruzada y estas - muestran estiramiento transversal, por tanto la estructura secundaria es - la de una triple helice de cadenas polipeptídicas que estan unidas por - puentes de hidrógeno.

Uno de los usos más amplios del colágeno es la gelatina, de la -
cual por cierta composición puede prepararse: Jaleas, mezclada con almi-
dón o féculas vegetales, para espesar sopas; la gelatina no es nutricional
mente completa.

En la gelatina se reconoce como punto isoionico (PI) al pH al -
cual se ionizan los grupos carboxilo y grupos amino en la molécula.

La gelatina como revestidor de plata en fotografía, y plateado de
metales en industrias electroplateables se aprovecha del fenómeno conocido
como acción protectora.

Para preservar la gelatina es necesario considerar el pH, se puede
agregar ácido benzoico, alcohol, cloruro de Acetil piridinio y otros com-
puestos.

El colágeno es importante también en las reacciones con cromo, for-
maldehído y benzoquinona como agentes curtientes en la piel o pellejo tra-
tado.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Glicksman Martin, GUM TECHNOLOGY; In the food Industry New York Academic - (1959).
- 2.- Anonymous (1954) GELATIN - FROM RAW MATERIAL TO FINISHED PRODUCT. Food - manuf 29 (7), 259-264.
- 3.- BORKER E, STEFANUCCI, A, AND LEWIS. A. (1966) GELATIN AND GELATIN PRODUCTS- DESSERT GEL STRENGTH TESTING. J. A. S.SOC. OFFIC Arg Chemist 49 (3)
- 4.- BOETKER H; AND DOTY P. (1956) the native and denatured, states of soluble collagen. J. Am Chem soc 78 4267-4280.
- 5.- HANNING K. AND ENGEL J. (1961) Phy-sicochemical investigations on tropoco-llagen solutions. Leder, 12, 213-222.
- 6.- HARDING. J.J. (1965) The unusual links and cross - Links of collagen. Ad- van protein chem. 20, 109-190.
- 7.- HARRINGTON WF AND VON HIPPEL. (1961) The exstructure of collagen adn gela- tin. Advan protein chem. 16, 1-138.
- 8.- BEAR R.S. (1944) J. Am chem, soc 66, 1927 (1942) 66, 729.
- 9.- SECRETARIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO DIRECCION GENERAL DE NORMAS: F-41-1964; F-43-1970. Norma Oficial para gelatina pura comestible.

- 10.- S.S.A. DEPARTAMENTO DE BEBIDAS Y ALIMENTOS.- Anteproyecto para norma de -
gelatina comestible (1979).

