

300627

10  
24



**UNIVERSIDAD LA SALLE**

**ESCUELA DE QUIMICA  
INCORPORADA A LA U. N. A. M.**

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

**PROPOSICION DE UN METODO DE EXTRACCION  
DE PROTEINA VEGETAL A PARTIR DE LA PLANTA  
DE JITOMATE VARIEDAD GRAND-PRIX**

**T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO  
P R E S E N T A  
JANE CUEVAS RACHED**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



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

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

Todo el material contenido en esta tesis 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.

UNIVERSIDAD LA SALLE.  
ESCUELA DE QUIMICA INCORPORADA A LA U.N.A.M.

*Revisada*  
*[Signature]*  
2/12/88

PROPOSICION DE UN METODO DE EXTRACCION DE PROTEINA  
VEGETAL A PARTIR DE LA PLANTA DE JITOMATE.  
VARIEDAD GRAND-PRIX.

*[Signature]*  
24 II-87

*Ruby N. Costy*  
10/3/87

TESIS  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO  
PRESENTA  
JANE CUEVAS RACHED.

*[Signature]*

MEXICO, D.F.

1987.

# I N D I C E

	PAG.
<b>CAPITULO 1: INTRODUCCION.</b>	
1.1. Objetivo	3
1.2 . Justificación.	3
<b>CAPITULO 2: GENERALIDADES.</b>	
2.1. Proteínas	4
2.2. Interacción de las Proteínas con Otros Constituyentes de los Alimentos.	36
2.3. Modificaciones de las Proteínas bajo Diferentes Tratamientos	38
2.4. Propiedades Funcionales.	44
2.5. Grupos Azufrados.	46
2.6. Necesidades de las Proteínas en el Mundo.	48
2.7 Fuentes de Proteínas.	50
2.8. La Planta de Jitomate.	59
2.9. Proteínas en la Planta de Jitomate.	69
2.10. Necesidad de Enriquecer Ciertos Alimentos como las Pastas Alimenticias.	71
<b>CAPITULO 3: MATERIAL Y EQUIPO.</b>	72
<b>CAPITULO 4: REACTIVOS.</b>	73
<b>CAPITULO 5: PARTE EXPERIMENTAL.</b>	
5.1. Materia Prima.	75
5.2. Investigación Experimental del Método de Extracción.	76
5.3. Métodos de Análisis.	78
5.4. Determinación de la Relación de Eficiencia Proteínica.	83
<b>CAPITULO 6: RESULTADOS.</b>	
6.1. Analisis Cromatológico de la Planta de jitomate sin Sufrir el Proceso de Extracción	86
6.2. Resultados en base al Método de Extracción.	87

6.3. Análisis Bromatológico que se le Practicó a la Pasta de Proteína.	87
6.4. Resultados del Rendimiento en base al Método de Extracción.	87
6.5. Análisis Bromatológico que se le Practicó a la Caseína de Referencia.	88
6.6. Análisis Bromatológico que se le Practicó a la Pasta Alimenticia Fortificada con la Proteína.	89
6.7. Análisis Bromatológico que se le practicó a la Pasta Alimenticia sin Fortificar.	90
6.8. Dietas.	91
6.9. Resultados en Base a la Determinación de la Relación de Eficiencia Proteínica (PER). (Cuadros de Registro de Datos).	91
6.10. Resultados en Base a la Determinación de PER. (Promedios).	95
6.11. PER Ajustado.	97
6.12. Calidad de la Proteína.	98
<b>CAPITULO 7: CONCLUSIONES.</b>	<b>100</b>
<b>CAPITULO 8: BIBLIOGRAFIA.</b>	<b>102</b>

CAPITULO 1.

I N T R O D U C C I O N .

**1.1. OBJETIVO:**

La obtención de proteína vegetal a partir de la planta de jitomate, para ser utilizada en la alimentación humana, incorporandola a pastas alimenticias y mejorando así su valor nutritivo.

**1.2. JUSTIFICACION.**

Actualmente se estan realizando investigaciones sobre el uso de las proteínas no convencionales para consumo humano, y así satisfacer las necesidades de este nutrimento en poblaciones de escasos recursos.

La obtención de proteína a partir de la planta de jitomate, representa el aprovechamiento de un recurso natural renovable que contiene alrededor del 11% de proteína en base seca, y que actualmente no se utiliza. (63).

El método de extracción tiene ventajas económicas, ya que con el mínimo de tecnología se puede llevar a cabo la extracción de la proteína y así poder ser utilizada en la industria alimentaria con todas las ventajas que esto representa a nivel nutricional.

CAPITULO 2.

GENERALIDADES.

**2.1. PROTEINAS.**

Las proteínas desempeñan un papel muy importante en las funciones biológicas del organismo humano, entre las que se encuentran la regeneración y formación de tejidos, la síntesis de enzimas, anticuerpos y hormonas y como constituyentes de la sangre.

Los órganos del hombre están compuestos básicamente de proteínas y se calcula que en el cuerpo humano existen alrededor de 5'000 000 de diferentes clases de estos polímeros. (13, 43, 67).

AMINOACIDOS.

Los aminoácidos son monómeros y principales constituyentes de las proteínas, por lo que su concentración y distribución determinan las propiedades de cada proteína.

Con excepción de la prolina e hidróxiprolina que son considerados como alfa-aminoácidos debido a que el nitrógeno del grupo amino interacciona de tal manera que se forma un anillo heterocíclico de 5 miembros.

A excepción de éstos a los demás aminoácidos se les considera alfa-amino carboxílicos con - caracter anfotérico debido a la presencia de grupos amino y carboxilo que se encuentran en - el carbono alfa de la molécula.

Todos los alfa-aminoácidos presentan un carbono asimétrico, por lo tanto, - existen en dos formas ópticamente activas: D y L isómeros: a excepción de la glicina que tiene un átomo de hidrógeno como radical R.

De acuerdo con la estructura química del gliceraldehído, los aminoácidos - que se encuentran en la naturaleza y son aprovechados en la síntesis de pro- teínas son los de configuración L. (Fig 1).



Fig. 1. Configuración D y L de los aminoácidos.

La mayoría de las proteínas utilizan para su síntesis 20 o 21 de estos ami- noácidos, siendo los que se muestran a continuación (cuadro 1).

Los de la serie D se encuentran en mezclas racémicas de aminoácidos produ- cidos a través de diferentes procesos químicos y no son aprovechados por el organismo humano en la síntesis de proteínas.

(5, 13, 43, 67)

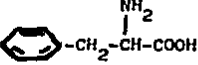
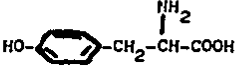
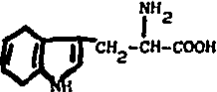
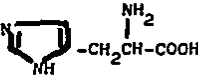
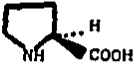


CUADRO 1.

AMINOACIDOS DE CONFIGURACION L ENCONTRADOS EN LAS PROTEINAS. (67).

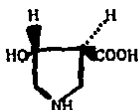
NOMBRE	ABREVIATURA	FORMULA	GRUPO
Glicina	Gly	$\begin{array}{c} \text{NH}_2 \\   \\ \text{H}-\text{CH}-\text{COOH} \end{array}$	Monoamino monocarboxílico.
Alanina	Ala	$\begin{array}{c} \text{NH}_2 \\   \\ \text{CH}_3-\text{CH}-\text{COOH} \end{array}$	Monoamino monocarboxílico.
Valina	Val	$\begin{array}{c} \text{CH}_3-\text{NH}_2 \\   \\ \text{CH}_3-\text{CH}-\text{CH}-\text{COOH} \end{array}$	Monoamino monocarboxílico.
Leucina	Leu	$\begin{array}{c} \text{CH}_3-\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\   \qquad \qquad   \\ \text{CH}_3 \qquad \qquad \text{NH}_2 \end{array}$	Monoamino monocarboxílico.
Isoleucina	Ile	$\begin{array}{c} \text{CH}_3-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \qquad \qquad   \qquad   \\ \qquad \qquad \text{CH}_3 \text{NH}_2 \end{array}$	Monoamino monocarboxílico.
Serina	Ser	$\begin{array}{c} \text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\   \qquad   \\ \text{OH} \qquad \text{NH}_2 \end{array}$	Hidroxiamino monocarboxílico.
Treonina	Thr	$\begin{array}{c} \text{NH}_2 \\   \\ \text{CH}_3-\text{CH}-\text{CH}-\text{COOH} \\   \\ \text{OH} \end{array}$	Hidroxiaminomonocarboxílico.

Acido Aspártico	Asp	$\begin{array}{c} \text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\   \quad   \\ \text{COOH} \quad \text{NH}_2 \end{array}$	Monoamino dicarboxílico.
Asparagina	Asn	$\begin{array}{c} \text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\   \quad   \\ \text{CONH}_2 \quad \text{NH}_2 \end{array}$	Monoamino dicarboxílico.
Acido Glutámico	Glu	$\begin{array}{c} \text{CH}_2-\text{CH}-\text{CH}-\text{COOH} \\   \quad   \quad   \\ \text{COOH} \quad \text{NH}_2 \end{array}$	Monoamino dicarboxílico.
Glutamina	Gln	$\begin{array}{c} \text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\   \quad \quad   \\ \text{CONH}_2 \quad \quad \text{NH}_2 \end{array}$	Monoamino dicarboxílico.
Lisina	Lys	$\begin{array}{c} \text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH} \\   \quad \quad \quad   \\ \text{NH}_2 \quad \quad \quad \text{NH}_2 \end{array}$	Diamino monocarboxílico.
Hidroxilisina		$\begin{array}{c} \text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH} \\   \quad \quad \quad   \\ \text{NH}_2 \quad \quad \quad \text{NH}_2 \end{array}$	Diamino monocarboxílico.
Arginina	Arg	$\begin{array}{c} \text{NH}_2 \quad \quad \quad \text{NH}_2 \\   \quad \quad \quad   \\ \text{NH}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}-\text{COOH} \\    \\ \text{NH} \end{array}$	Diamino monocarboxílico.
Cisteína	Cys	$\begin{array}{c} \text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\   \quad   \\ \text{SH} \quad \text{NH}_2 \end{array}$	Azufrados.

Cistina	CysCys	$\begin{array}{c} \text{NH}_2 \\   \\ \text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\   \\ \text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\   \\ \text{NH}_2 \end{array}$	Azufrados.
Metionina	Met	$\begin{array}{c} \text{S}-\text{CH}_3 \quad \text{NH}_2 \\   \quad   \\ \text{CH}_2\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \end{array}$	Azufrados.
Fenilalanina	Phe	$\text{C}_6\text{H}_5-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH}$ 	Cíclicos.
Tirosina	Tyr	$\text{HO}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH}$ 	Cíclicos.
Triptofano	Trp	$\text{C}_8\text{H}_6\text{N}_2-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH}$ 	Cíclicos
Histidina	His	$\text{C}_5\text{H}_4\text{N}_2-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH}$ 	Cíclicos.
Prolina	Pro		Cíclicos.

Hidróxipro-  
lina

Hypro



Cíclicos.

---

Los se clasifican también en base a sus diferentes características (cuadro 2).

POLAR. La naturaleza polar se explica por la distribución electrónica, tomando en cuenta las contribuciones de las formas iónicas del híbrido en resonancia debido a la presencia de grupos amino, carboxilo, hidróxilo, sulfhidrilo que influyen en el carácter ácido o básico y por lo tanto en el punto isoeléctrico.

NO POLAR. Si las formas polares se anulan por pares en el híbrido las contribuciones iónicas se neutralizan.

AROMÁTICO. El aminoácido contiene por lo menos un grupo aromático.

ACIDO HIDROFÍLO. El grupo funcional ácido tiende a solvatar en medio acuoso (grupos carboxilo).

NEUTRO. La carga neta es igual a cero.

BASE HIDROFÍLO. El grupo funcional básico tiende a solvatar en medio acuoso (grupo amino).

HIDROFÓRO. No tiene afinidad para solvatar en medio acuoso. (Las proteínas son parcialmente hidrofóbicas en sus regiones hidrocarbonadas).

INDISPENSABLE. Son aquellos que forzadamente se deben obtener en la dieta, ya que no se sintetizan en las cantidades requeridas por el hombre.

NO INDISPENSABLE. Son aquellos que normalmente son producidos en concentraciones suficientes por el organismo humano, de tal manera que no es necesaria su presencia en las proteínas.

CUADRO 2.

CLASIFICACION DE LOS AMINOACIDOS CON BASE EN  
SUS DIFERENTES CARACTERISTICAS (47).

---

POLAR.	Ala, Arg, Asp, Cys, Glu, Gly, His, Lys, Ser, Thr, Trp; Tyr, Val, Gln.
NO POLAR.	Ile, Leu, Met, Phe, Pro, Val.
AROMATICO.	Phe, Tyr.
ACIDO HIDROFILO.	Asp, Glu, Tyr.
NEUTRO.	Ala, Asn, Cys, Glu, Gly, His, Ser, Thr, Trp, Tyr.
BASE HIDROFILO.	Arg, His, Lys.
HIDROFOBO.	Ala, Gly, Ile, Leu, Met, Phe, Pro, Trp, Val.
INDISPENSABLE.	Arg*, Cys, His*, Ile, Leu, Lys, Met, Phe, Thr, Trp Val.
NO INDISPENSABLE.	Ala, Asn, Asp, Glu, Gln, Gly, Pro, Ser, Tyr.

---

\* Indispensable en niños muy pequeños.

Los vertebrados no son capaces de sintetizar todos los aminoácidos; el hombre y la rata albina pueden formar 10 de los 20 aminoácidos que se requieren como sillares en la construcción de las proteínas, los restantes se denominan "aminoácidos esenciales o nutritivamente indispensables" y se requieren consumir de los alimentos. (47).

CLASIFICACION DE LAS PROTEINAS.

Las proteínas simples estan compuestas exclusivamente de aminoácidos, mientras que las conjugadas tienen además un grupo no proteico. (cuadro 3).

CUADRO 3.  
CLASIFICACION DE LAS PROTEINAS.(5,43).

<u>CLASIFICACION</u>	<u>PROPIEDADES</u>	<u>EJEMPLO</u>
<u>POR COMPOSICION:</u>		
1. <u>Simple</u>	Contiene sólo aminoácidos.	Insulina.
2. <u>Conjugada</u>	Contiene una fracción no proteica.	
a) Metaloproteínas	Pigmentos	Hemoglobina.
b) Glucoproteína	Contiene carbohidratos	Inmunoglobulinas.
c) Fosfoproteínas	Contiene Fósforo	Caséina de la leche.
d) Lipoproteínas	Contiene lípidos	Lipopovitelina (yema de huevo).
e) Nucleoproteínas	Contiene ácidos nucleicos	Virus, genes.
<u>POR FORMA:</u>		
1. Globular	Esferica u ovoide	Albumina de huevo
2. Fibrosa	Forman fibras de tejido conectivo	Colágeno.
	Proteínas de ligamento y tendones	Elastina.
	Pelo, lana, uñas, cuernos	Queratina.

Proteína muscular	Miosina y actina.
Responsable de la coagulación de la sangre.	Fibrinógeno.

POR SOLUBILIDAD.

1. <u>Albumina</u>	Soluble en agua y soluciones salinas.	alfa-lactoalbúmina de la leche.
2. <u>Globulinas</u>	Poco solubles en agua. Solubles en soluciones salinas de baja concentración.	Miosina del músculo.
3. <u>Histonas</u>	Alto contenido en aminoácidos básicos Solubles en soluciones ácidas.	Proteínas unidas a ácidos nucleicos
4. <u>Glutelinas</u>	Insolubles en agua y alcohol	Glutén del trigo.
5. <u>Prolaminas</u>	Solubles en 70% de alcohol	Zeína del maíz.
6. <u>Escleroproteínas</u>	Insolubles en la mayoría de los solventes	Todas las proteínas fibrosas.

POR FUNCION.

1. <u>Estructural</u>	Forma parte de la estructura del cuerpo	Proteínas fibrosas
2. <u>Enzimas</u>	Catalizan reacciones biológicas	Lipasas.
3. <u>Hormonas</u>	Mensajeros Químicos	Glucagón.
4. <u>Toxinas</u>	Proteínas dañinas generadas por microorganismos	Toxina botulínica
5. <u>Anticuerpos</u>	Proteínas protectoras elaboradas por el organismo	alfa-globulinas de la sangre.

ENLACE PEPTIDICO.

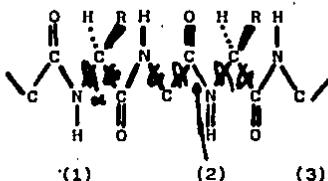
Los péptidos y las proteínas son el producto de la unión heterogénea de aminoácidos a través de enlaces peptídicos que se forman por una condensación entre el carboxilo de un aminoácido y el grupo amino de otro, con la eliminación de una molécula de agua. (Fig. 2).



Fig. 2. ENLACE PEPTIDICO.

La unión de dos aminoácidos por medio de un enlace peptídico genera una molécula llamada dipéptido, mientras que tres aminoácidos forman un tripéptido y así sucesivamente. Las cadenas constituidas por pocos aminoácidos forman los péptidos y son el resultado de la hidrólisis de proteínas. La condensación de un mayor número de aminoácidos a través de enlaces peptídicos produce los polipéptidos, de tal manera que cuando tienen pesos moleculares de más de 5,000 daltones, se les denomina proteínas. Los péptidos y las proteínas tienen un grupo amino y uno carboxilo terminal correspondiente a los dos aminoácidos que se localizan en los extremos de la cadena. Sólo los átomos de carbono alfa donde se encuentran el grupo R, tienen la capacidad de rotación, (43) (Fig. 3).





- (1) amino terminal
- (2) enlace peptido coplanar
- (3) carboxilo terminal

**Fig. 3. ENLACES PEPTIDICOS QUE MUESTRAN QUE UN SOLO CARBONO ALFA TIENE POSIBILIDADES DE ROTACION (43)**

Las proteínas tienen muy pocos grupos  $\text{NH}_2$  y  $\text{COOH}$  titulables lo que indica la existencia de enlaces peptídicos .

Estos grupos titulables aumentan considerablemente después de una hidrólisis ácida o alcalina de la proteína.(37)

Por medio de difracción de rayos X , se ha encontrado que el enlace peptídico C-N tiene carácter de doble ligadura por la resonancia que existe entre átomos O-C-N. Debido a ésta resonancia, la ligadura C-N de las proteínas - es más corta que otros compuestos orgánicos e inorgánicos con uniones semejantes, lo cual causa que el enlace peptídico sea rígido y no pueda rotar libremente, obligando a los aminoácidos a localizarse en sitios fijos con

libertad de movimiento. Normalmente todos los enlaces peptídicos son de configuración trans, ya que el cis es poco estable, sobre todo cuando se trata de aminoácidos con radicales R muy voluminosos. El átomo de oxígeno del grupo carboxilo C=O y el átomo de hidrógeno del grupo amino N-H se encuentran en posición trans uno con respecto al otro, de tal manera, que los seis - átomos que constituyen el enlace peptídico se localizan en un sólo plano, o sea que el enlace peptídico es coplanar. Esta ordenación planar es rígida y es el resultado de la estabilización del enlace peptídico a través de su resonancia. (43)

Las proteínas no tienen facilidad de rotación, ni de flexibilidad y por lo tanto, el número de formas estructurales que puede adquirir es reducido. - Estas restricciones en la estructura de las proteínas son aún más notorias cuando los grupos R de los aminoácidos presentan impedimentos estéricos por su tamaño. (43).

La estructura tridimensional de cualquier proteína no es "al azar" sino que esta condicionada y restringida por la rigidez del enlace peptídico y factores estéricos producidos por los radicales de los aminoácidos.(43)

Para obtener una mayor estabilidad en los polipéptidos se deben reunir estos requisitos:

- 1) Los átomos que integran el enlace peptídico deben ser coplanares y es necesario que su configuración sea trans.

2) Los átomos del enlace peptídico tienen la posibilidad de interactuar a través de puentes de hidrógeno, lo que debe presentarse a su máxima capacidad para aumentar la estabilidad de la proteína.

3) Para una máxima energía de interacción a través de puentes de hidrógeno se requiere una colinearidad de todos los enlaces peptídicos. (5.13)

#### ORGANIZACION ESTRUCTURAL.

La Configuración es el ordenamiento espacial de los grupos sustituyentes - en los estereoisómeros, de tal forma que estas estructuras no pueden interconvertirse sin la ruptura de los enlaces covalentes. (43)

La conformación se refiere a la ordenación de los grupos que son libres de adoptar varias posiciones sin la ruptura de enlaces, lo que se debe a su - rotación alrededor de los enlaces simples de la molécula. (43).

Las proteínas globulares presentan diferentes estados de ordenación estructural dentro de su propia molécula. Las propiedades y características de - las proteínas dependen de la conformación en que se encuentren. Para que - una proteína tenga determinada actividad biológica es necesario que adquie - ra una conformación específica y única. La destrucción de la conformación trae consigo la pérdida de la actividad.

Las cuatro estructuras de las proteínas están estabilizadas por diferentes

tipos de uniones químicas. (cuadro 4).

CUADRO 4.  
FUERZAS DE UNION. (37)

TIPO	MECANISMO	ENERGIA (Kcal/mol)	DISTANCIA DE INTERACCION (A)	GRUPOS QUE INTERACCIONAN
COVALENTE	Reparto de electrones	30 - 100	1 - 2	C-C, C-N, C=O, C-H S-S, C-N-S.
FUENTE IONICO	Atracción Coulombica entre grupos cargados opuestamente.	10 - 20	2 - 3	$\text{NH}_3^+$ , $-\text{COO}^-$ , $\text{NH}^+$ .
FUENTES DE HIĐROGENO	El hidrógeno es repartido entre 2 átomos electronegativos.	2 - 10	2 - 3	$\text{N-H}^{\delta+}$ , $\text{O=C}$ , $\text{OH}^{\delta-}$ .
FUERZAS ATRAC- TIVAS DE VAN DER WALLS	Inducción mutua de momentos dipolares en grupos apolares.	1 - 3	3 - 5	Grupos apolares.

El enlace S-S es el más débil ya que requiere una menor energía para su hidrólisis y es el único que puede ser roto sin causar una pérdida total de la conformación y por lo tanto de la funcionalidad. El enlace peptídico C-N

es el más fuerte de los existentes en las proteínas. Las proteínas tienden a adquirir la conformación más estable, que es la que se encuentra en los niveles más bajos de energía libre y se produce debido a las diferentes uniones químicas que intervienen en la formación del polipéptido. (37)

#### ESTRUCTURA PRIMARIA.

Esta estructura esta determinada por la forma secuencial y ordenada en que se encuentran distribuidos los aminoácidos a lo largo de la cadena de proteína y es una propiedad reproducible controlada genéticamente y única para cada fracción proteica. (5)

Muchas de las propiedades y características de las proteínas dependen de la secuencia y tipo de aminoácidos que contengan. La presencia de una gran cantidad de aminoácidos hidrófobos hace que las proteínas sean poco solubles en agua, mientras que los hidrófilos la solubilizan rápidamente. Debido a la influencia de los diferentes grupos R, la estructura primaria determina en gran medida el tipo y la intensidad de la estructura secundaria y terciaria. (13).

#### ESTRUCTURA SECUNDARIA.

La estructura secundaria se refiere a la ordenación regular y periódica en el espacio de las cadenas polipeptídicas a lo largo de una dirección. Existen tres tipos de estructura secundaria:

- 1) Hélice alfa.
- 2) Conformación beta.
- 3) Hélice de colágena.

(43)

Todas estan estabilizadas por diferentes fuerzas , siendo las más importantes las electroestáticas, los puentes de hidrógeno, las interacciones - hidrófobas, y las interacciones dipolo-dipolo. (5)

a) La mayoría de las proteínas tienden a formar hélices alfa en los que - una vuelta completa de la hélice contiene aproximadamente 3.6 aminoácidos, que estando orientados sus radicales R en forma perpendicular hacia el exterior del eje central. Las hélices alfa presentan menor energía libre y - por lo tanto es la forma más estable de la estructura secundaria. Se pueden formar los L ó D isómeros y además con un enrollamiento helicoidal hacia - la derecha o izquierda; Sin embargo, todas las proteínas que actualmente - se conocen en la naturaleza se forman con L aminoácidos y son dextrohélices.

(43)

Los carbonilos de los enlaces peptídicos de la hélice alfa tienen la capa - cidad de formar puentes de hidrógeno intramoleculares entre vueltas con - secutivas de la cadena de proteínas. (43)

Estas uniones suceden cada 3.6 aminoácidos aproximadamente a lo largo de - la hélice y se efectúan entre el átomo de hidrógeno de un enlace peptídico

(N-H) y el oxígeno carbonílico (C=O) del tercer aminoácido que le sucede. Los puentes de hidrógeno son paralelos al eje de la hélice y debido al alto número que contiene cada proteína contribuyen de gran manera a la formación de la estructura secundaria, a pesar de que su energía de formación individual sea muy baja. (43)

La hélice alfa se ve favorecida y estabilizada por los siguientes aminoácidos: alanina, leucina, fenilalanina, tirosina, triptófano, cisteína, metionina, histidina, aspargina, glutenina, valina. (43)

La prolina e hidróxiprolina tienen la propiedad de romper las hélices alfa ya que su estructura química ejerce impedimentos y no le permite integrarse a ellas. (43)

b) El segundo tipo de estructura secundaria es la conformación beta y se presenta en las queratinas. Cada cadena polipeptídica adopta una conformación de "zig-zag" extendida, de tal forma que pueden existir varias moléculas de proteínas alineadas paralela o antiparalelamente, produciendo láminas plegadas que se encuentran unidas transversalmente por puentes de hidrógeno intermoleculares. Todas las uniones peptídicas contribuyen a la formación de puentes de hidrógeno y por lo tanto le confieren una gran estabilidad a este tipo de estructura. Los grupos R de los aminoácidos están localizados por encima o por debajo de los planos de "zig-zag" de la lámina plegada. Las cadenas polipeptídicas paralelas se desarrollan en la misma

dirección del N terminal al C terminal, mientras que en las antiparalelas - las cadenas se extienden en direcciones opuestas. (67)

c) El tercer tipo de estructura secundaria se presenta en las hélices de co l á g e n a, que es una proteína fibrosa muy rígida y se encuentra en los tejidos conectivos de los vertebrados superiores. Debido a su alto contenido de pr o l i n a e hidróxiprolina, la colágena forma una estructura secundaria consistente en una triple hélice de cadenas polipeptídicas. Cada hélice es una ca d e n a enrollada hacia la izquierda y se mantienen unidas por puentes de hidrógeno intermoleculares. (24, 43)

Cuando no existen puentes de hidrógeno o ninguna otra unión que restrinja la libre rotación de la cadena, la proteína puede adquirir muchas conformaciones que están controladas por factores como la temperatura, pH, presencia de sales, sólidos totales y la naturaleza del disolvente en que se encuentre. A la conformación de las proteínas en este estado de libertad se le designa " al azar " y se le alcanza cuando hay un proceso de desnaturalización del polipéptido. (43).

### ESTRUCTURA TERCIARIA.

Esta estructura se refiere al modo en que la cadena polipeptídica se curva o se pliega para formar una estructura estrechamente plegada y compacta, ca r a c t e r i s t i c a característica de las proteínas globulares.



Las proteínas globulares tienen sus cadenas plegadas en forma compacta con estructura tridimensional altamente organizada. Las principales fuerzas que contribuyen a la estabilidad de la estructura son los enlaces disulfuro (S-S), los hidrófobos, los hidrófilos y los puentes iónicos. Los grupos R de los diferentes aminoácidos desempeñan un papel muy importante ya que el grado de estructura terciaria que la proteína requiera dependerá de su naturaleza, de su tamaño, y de los efectos estéricos que ejerzan. (5).

El puente S-S es el más fuerte y se forma cuando dos moléculas de cisteína se oxidan, lo que imparte una alta estabilidad a la proteína. Existen proteínas que carecen de enlaces S-S pero cuya estructura terciaria está estabilizada por puentes hidrófilos, hidrófobos y salinos, aunque puede ser una molécula menos estable que las que contienen enlaces disulfuro. (5)

Cuando las proteínas se disuelven en agua tienden a adquirir una estructura con una energía libre mínima para poder tener una mayor estabilidad lo que hace que los aminoácidos no polares se orienten hacia el centro o el interior de la proteína, mientras que los polares lo hagan hacia el exterior - en contacto con el agua. Esta orientación y localización de los aminoácidos en áreas afines definidas de la cadena del polipéptido hacen que se desarrollen microambientes hidrófobos e hidrófilos en los cuales se encuentran y desarrollan muchas de las actividades biológicas de las proteínas. (67)

### ESTRUCTURA CUATERNARIA.

La estructura cuaternaria no necesariamente existe en todos los polipéptidos y se refiere a la asociación de dos o más cadenas de proteínas a través de uniones covalentes, hidrófobos, etc. (56).

Esta estructura pone de manifiesto la forma física en que se disponen en el espacio las cadenas individuales polipeptídicas de una proteína que esta - compuesta por más de una cadena. La mayor parte de las proteínas de pesos - moleculares elevados, ya sean fibrosas o globulares, contienen dos o más - fracciones de polipéptidos.

### **PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS DE LAS PROTEÍNAS.**

Las proteínas poseen muy diferentes propiedades físicas y químicas que las hacen impartir diferentes características a los alimentos.

### COMPOSICION.

El análisis de la composición de los aminoácidos que contiene una proteína se efectúan por mé todos de cromatografía de intercambio iónico. Generalmente se emplean dos - resinas; una cationica y otra anionica, que tienen la capacidad de separar los diferentes aminoácidos debido a su alta afinidad por cada uno de ellos. (43).

El primer paso en el análisis de una proteína es su hidrólisis total. Las proteínas se pueden hidrolizar al calentarlas en exceso de ácido clorhídrico 6 N a 120°C por 10 a 24 horas. Este tratamiento destruye el triptofano - al igual que un porcentaje de treonina y serina. Durante este tipo de hidrólisis los grupos R amino de la aspargina y la glutamina se liberan transformando estos aminoácidos en ácido aspártico y ácido glutámico. La ventaja de este tratamiento es que no se produce un alto grado de racemización de aminoácidos y sólo la L-cisteína se transforma en una mezcla de los isómeros D y L. (34).

Otra forma de hidrolizar las proteínas es con álcalis concentrados como el - hidróxido de sodio a temperatura de ebullición. La principal ventaja de este método es que no se destruye el triptofano, pero se produce una fuerte racemización de la mayoría de los aminoácidos y la destrucción de un porcentaje de cisteína, cistina, serina, treonina, aspargina, glutamina y lisina.(43).

El hidrolizado de la proteína se pasa a través de columnas de intercambio iónico, donde los aminoácidos se eluyen a diferentes velocidades de acuerdo con la afinidad que tengan por los grupos reactivos de las resinas. Cada aminoácido es identificado con base en el tiempo en que tarda en salir de la columna. (43).

El método Kjeldahl es el utilizado en la mayoría de los análisis cuantitativos de las proteínas totales. (50).

### ELECTROFORESIS.

Debido a la presencia de aminoácidos cargados eléctricamente a un pH determinado, la proteína cuando se somete a un campo eléctrico se desplaza hacia el cátodo o ánodo, dependiendo del balance global de cargas positivas o negativas. Las velocidades de migración es una función de la carga neta de la proteína, de la forma, del pH, de la intensidad de la corriente aplicada y del material utilizado como soporte para efectuar la electroforesis. En los métodos más comunes de electroforesis se usa como soporte la forma polimerizada de la acrilamida y en algunos casos se emplea papel o almidón gelatinizado. (54).

En la electroforesis se emplean muchos agentes químicos que tienen como función el facilitar la movilidad de las proteínas a lo largo del soporte. (54)

### SOLUBILIDAD.

La solubilidad de las proteínas esta determinada por:

- a) Su grado de hidratación.
- b) Su densidad y distribución de cargas a lo largo de la cadena.
- c) La presencia de compuestos no proteicos como fosfatos, carbohidratos o lípidos que pueden tener un efecto estabilizante.

Las proteínas son electrolitos de altos pesos moleculares y de un gran orden estructural y son muy susceptibles a cambios profundos en su solubilidad - cuando se altera alguno de los tres factores anteriores.

Los principales agentes que logran efectuar dichos cambios son:

1.- Fuerza iónica.

2.- pH.

3.- Propiedades dieléctricas del disolvente.

4.- Temperatura.

(43).

La insolubilización completa de las proteínas produce su precipitación, lo que sucede cuando varias moléculas de polipéptido llegan a estar en contacto íntimo, de tal manera que forman grandes agregados cuya solubilidad es - menor que de la molécula en su forma individual. La cual se puede ajustar - el pH al punto isoeléctrico de la proteína, por la adición de sales o con - el uso de ciertos disolventes.

La solubilidad de la proteína también depende de la relación de los aminoácidos hidrófilos-hidrófobos, su secuencia de aminoácidos o estructura primaria y longitud de la cadena. (5,13,43).

### 1. EFECTO DE LA FUERZA IONICA.

Las sales neutras ejercen efectos muy marcados en la solubilidad de las proteínas globulares, lo que está muy relacionado con la fuerza iónica que desarrollan. Dentro de un intervalo de bajas concentraciones las sales incrementan la solubilidad de muchas proteínas; este fenómeno recibe el nombre - de solubilización por salado. (43).

Si aumenta considerablemente la fuerza iónica del sistema, se logra reducir la solubilidad hasta producir la precipitación; fenómeno que es llamado insolubilización por salado. (43).

Las sales de iones divalentes son mucho más eficaces en la precipitación de las proteínas que las sales de los iones monovalentes. (67).

Los cationes y aniones de las sales neutras tienen afinidad por los grupos iónicos R provenientes de los aminoácidos ionizables, por lo que evitan la interacción entre moléculas de proteínas a través de grupos cargados. Al inhibir dicha interacción aumenta la solubilidad de las proteínas y se produce su solubilización por salado. (43).

En la insolubilización por salado, se considera que las sales en concentraciones elevadas tienen un efecto deshidratante sobre las proteínas, que se refleja en que la proteína pierde parte del agua que la rodea y sirve como

agente estabilizante. Las proteínas se estabilizan y permanecen insolubles debido a que interaccionan con las moléculas de agua a través de grupos hidrófilos iónicos por lo que la eliminación de dicha agua estabilizante las obliga a accionar entre ellas mismas, de tal forma que se agregan y precipitan. (43).

## 2. EFECTO DEL pH.

Debido a su naturaleza anfótera la solubilidad de las proteínas globulares esta muy influenciada por el pH al que se encuentre. (58).

Es mínima en el punto isoelectrico, pero aumenta al alejarse de él. Dependiendo del pH del sistema, las proteínas pueden actuar como cationes o como aniones, de tal forma que al tener la misma carga eléctrica desarrollan fuerzas de repulsión entre ellas, que repercuten en un aumento de la solubilidad y estabilidad. En el punto isoelectrico las fuerzas de repulsión son mínimas lo que hace que las proteínas tiendan a agregarse con su consecuente precipitación final. No todas las proteínas son insolubles en su punto isoelectrico. (43, 49).

## 3. EFECTO DE LOS DISOLVENTES.

Los disolventes ejercen una influencia muy marcada en la estabilidad y solubilidad de las proteínas, de tal forma que la constante dieléctrica del medio en que se disuelven es un factor determinante. La fuerza de atracción -

entre dos moléculas de proteína puede aumentar si se colocan en un disolvente con un valor bajo de su constante dieléctrica. Por lo cual el etanol y la acetona se emplean para la obtención comercial de precipitados de proteínas con el inconveniente que las inducen a una fuerte desnaturalización. El etanol inestabiliza las soluciones de proteínas debido a que posee una constante dieléctrica menor que la del agua, lo que hace que los grupos R - las proteínas disminuyan su grado de ionización y tienden a agregarse y a precipitar. (19, 43, 69).

#### 4. EFECTO DE LA TEMPERATURA.

Dentro de un intervalo de 0 a 40°C, la solubilidad de la mayoría de las proteínas se incrementa al aumentar la temperatura; Sin embargo, hay excepciones ya que existen proteínas como la caseína beta, que es más soluble a 0 - que a 25°C. Cuando la temperatura aumenta considerablemente y se sale del - intervalo de solubilidad máxima, el efecto se hace inverso y la proteína se desnaturaliza con su consecuente precipitación. La mayoría de las proteínas se vuelven inestables a temperaturas mayores de 40 a 50°C. (43)

#### HIDRATACION.

Las proteínas presentan diferentes capacidades de retención de agua, debido a la facilidad que tienen de interaccionar con las moléculas de este disolvente a través de puentes de hidrógeno. (9)



Estos grados de hidratación se deben a las diferencias que existen en la relación de aminoácidos polares y no polares de cada proteína y a factores como pH, temperatura y fuerza iónica. (9).

Los aminoácidos polares son los grupos que ejercen una influencia en la interacción proteína-agua; pueden ser de naturaleza catiónica, aniónica y no iónica y para cada una de ellas tienen una diferente capacidad de retención de agua. (41).

Los sitios activos más importantes de los aminoácidos con capacidad para - formar puentes de hidrógeno son los  $-\text{COOH}$ ,  $-\text{NH}_2$ ,  $-\text{OH}$  (alifático y fenólico),  $=\text{C}=\text{O}$ ,  $-\text{NH}-$  y tienen mayor capacidad de retención de agua cuando se encuentran en forma ionizada por lo que la influencia del pH del sistema en que se encuentran es de importancia fundamental. La conformación tridimensional de la proteína ejerce una influencia muy grande en su hidratación, ya que - los grupos activos deben ser expuestos hacia el exterior en contacto con - el agua para permitir una mayor interacción. La presencia de ciertas sales y solutos, influyen en forma determinante en la solubilidad, viscosidad, - hidratación y gelificación de las proteínas, lo cual se relaciona con el hecho de que algunas sales pueden interaccionar con los grupos y sitios activos que retienen agua. La cantidad de sales que se unen con una molécula de proteína es función de la actividad de agua del sistema, mientras que la - cantidad de agua retenida de las proteínas es una función de la concentra- ción de sales. (9).

### VISCOSIDAD.

La viscosidad de las dispersiones de proteínas varía de acuerdo con el tamaño y forma de la molécula de polipéptido y además es igualmente influenciada por los mismos factores que afectan su hidratación y agregación. A bajas temperaturas se favorece la formación de puentes de hidrógeno, lo que trae consigo un aumento en la hidratación de la proteína y por lo tanto una mayor viscosidad de sus dispersiones. El efecto contrario sucede al incrementar la temperatura. (28, 41).

### AGREGACION.

Las moléculas de proteína tienen la capacidad de agregarse a través de acciones entre ellas mismas, lo que depende de factores como pH, punto isoelectrico, fuerza iónica. (19, 49, 69).

Los tratamientos térmicos inducen más fácilmente la agregación de las proteínas cuanto más cercano este el pH al punto isoelectrico. (43, 49, 69).

Los métodos comerciales de aislamiento de proteínas se basan en las condiciones que favorecen el fenómeno de agregación.

### DES NATURALIZACION.

Las proteínas tienen un alto grado de estructuración y de orden conformacio-

nal que es necesario para que desarrollen su actividad biológica. Pueden - perder dicha estructuración en el fenómeno conocido como desnaturalización.

(43).

La desnaturalización es la pérdida de la estructura secundaria, terciaria y cuaternaria de las proteínas sin que exista una hidrólisis del enlace peptídico, es decir, es el rompimiento de alguno de los enlaces disulfuro, inter e intramoleculares, de los puentes de hidrógeno y de los iónicos.(43).

Durante la desnaturalización, la proteína se desdobra adquiriendo una conformación al azar que depende de la intensidad del tratamiento que se aplique por lo que en algunos casos el proceso puede ser reversible. (43).

Cada proteína tienen una diferente sensibilidad a los agentes desnaturalizantes en función de la facilidad de estos para afectar la estructura tridimensional del polipéptido. Las proteínas desnaturalizadas presentan características y propiedades diferentes a las proteínas en su forma original y estas diferencias se relacionan directamente con el método utilizado para la desnaturalización. Las proteínas altamente desnaturalizadas tienden a la - agregación y precipitación. (43).

Las operaciones más importantes que se emplean durante la manufactura de - alimentos y que pueden inducir a la desnaturalización de las proteínas son el calentamiento, presión, irradiación, congelamiento, los esfuerzos mecánicos

cos, el pH ácido o alcalino, y la presencia de sales. En general, cualquier agente químico capaz de romper puentes de hidrógeno e hidrófobos pueden causar la desnaturalización de proteínas. La urea, el clorhidrato de guanidina, los detergentes, el etanol, la acetona y otras sustancias inducen este fenómeno. (19, 49, 69, 70).

Los métodos que existen para medir la intensidad de la desnaturalización de las proteínas se basan en las determinaciones de algún cambio físico o químico durante este fenómeno. La desnaturalización no siempre es dañina y en muchos casos es necesaria como parte esencial en la manufactura de ciertos alimentos. Las proteínas desnaturalizadas pueden ser atacadas más fácilmente por las enzimas proteolíticas del estómago y por lo tanto se asimilan con mayor velocidad. (30)

#### COAGULACION Y GELIFICACION.

La gelificación es un proceso que se realiza en dos etapas:

- a) Primero se requiere de un desdoblamiento y desnaturalización de las proteínas.
- b) En una segunda reacción se asocian gradualmente para producir una red tridimensional de moléculas que retienen gran cantidad de agua formando un gel.

La primera reacción se acelera debido a altas temperaturas, la segunda a bajas. Las características de los geles formados dependerá en gran parte al - tratamiento térmico a la que fue sometida la proteína. (15)

Algunas proteínas son capaces de formar un gel a concentraciones relativamente bajas debido a un fenómeno que sucede en tres pasos:

- a) Polimerización de cadenas de proteínas por calor o cualquier otra forma de desnaturalización, seguida de la formación de enlaces disulfuro, de puentes iónicos, de hidrógeno o hidrófobos.
- b) Aumento en la hidratación de las moléculas especialmente a bajas temperaturas.
- c) Absorción de agua libre.

El fenómeno de gelificación de proteínas puede ser irreversible o reversible según la intensidad de la desnaturalización. (24).

#### REACCION DE MAILLARD.

La reacción de Maillard es aquella que se lleva a cabo entre un grupo aldehído o cetona, proveniente de azúcares reductores y grupos amino de aminoácidos y proteínas. Este tipo de reacciones de oscurecimiento es el que sucede más frecuentemente cuando los alimentos se calientan a temperaturas altas, o cuando se almacenan por períodos largos y va acompañado además de una re-

ducción de la solubilidad de las proteínas, una baja en el valor nutritivo y la producción de sabores amargos. Los azúcares reductores que pueden favorecer esta reacción son pentosas, hexosas, disacáridos, ácido urónico y cetonas. Las cetonas reaccionan con aminas aromáticas pero no producen pigmentos, sin embargo, con aminoácidos efectúan las correspondientes reacciones de oscurecimiento.

La reacción de Maillard se realiza en tres pasos:

PASO INICIAL: No hay producción de color.

- a) Condensación azúcar-amino para formar una glucosamina-N-sustituida.  
Reacción reversible.
- b) Rearreglo de Amadori. La glucosamina se transforma a una cetosamina o aldosamina.

PASO INTERMEDIO: Formación de colores amarillos muy ligeros y producción de colores desagradables.

- c) Deshidratación de azúcares; se forman derivados del furfural, reductonas o dehidrorreductonas, dependiendo de la actividad del agua del sistema.
- d) Fragmentación de azúcares; se forman compuestos alfa-hidroxicarbonilos, glucoaldehído, gliceraldehído, piruváldehído, acetol, acetona, diacetilo, etc.

- e) Degradación de Strecker; Aminoácidos, más dehidroreductonas que en el paso c, formación de aldehídos con un átomo de carbono menos, más  $\text{CO}_2$ .

PASO FINAL: Formación de pigmentos.

- f) Condensación aldólica de compuestos intermediarios para formar - pigmentos insaturados con propiedades fluorescentes.
- g) Polimerización de aldehídos con aninas. (28).

Existen otros caminos que también conducen al oscurecimiento y que son diferentes a la reacción de Maillard. (46).

**2.2. INTERACCION DE LAS PROTEINAS CON OTROS CONSTITUYENTES DE LOS ALIMENTOS.**

Algunas de las interacciones en las que intervienen las proteínas pueden reducir el valor nutritivo de los alimentos debido a que forman complejos que no son metabolizados por el humano. La digestibilidad de las proteínas se reduce por la presencia de algunos espesantes como alginatos, pectinas y carrageninas, ya que el complejo proteína-carbohidrato que se produce es difícil de atacar por las enzimas proteolíticas del sistema digestivo. Las acciones entre taninos y proteínas reducen la disponibilidad biológica de la proteína. (14).

a) INTERACCION PROTEINA-PROTEINA.

Este tipo es muy común en alimentos con un alto contenido de proteína. Las principales fuerzas que contribuyen a estas interacciones son las uniones -

hidrófobas orientadas en forma ordenada que hacen que se produzcan grandes complejos de proteína. Las estructuras cuaternarias de las proteínas son el resultado de este tipo de interacción. (56).

b) INTERACCION PROTEINA-POLISACARIDO.

Algunos de los carbohidratos utilizados como aditivos tienen grupos funcionales muy reactivos como carbonilos y sulfatos, que pueden interactuar con los grupos activos de las proteínas. (29, 51)

Las proteínas reaccionan muy pobremente con los polisacáridos neutros, como algunas gomas y almidones. Las reacciones entre carbohidratos y proteínas son de origen iónico; son muy raros los enlaces covalentes y los puentes hidrófobos. Debido a que las proteínas y polisacáridos tienen características coloidales, pueden formar grandes agregados con estructuras tridimensionales muy firmes cuya estabilidad es una función de la fuerza iónica, del pH del sistema y de la relación de proteína-carbohidrato que exista. (23, 27).

c) INTERACCION PROTEINA- LIPIDO.

Los lípidos reaccionan con las proteínas a través de puentes hidrófobos o iónicos y también existen puentes salinos con iones divalentes como el calcio. (8, 21).

Las lipoproteínas tienen mucha importancia biológica ya que se encuentran -



como estructura básicas en las membranas de las células vegetales y animales y sus modificaciones ejercen efectos muy notorios en la calidad.

Las proteínas se emplean en muchos alimentos por su capacidad emulsionante, debido a su facilidad de formar estructuras lipoproteicas muy estables. Cada tipo de proteína tiene diferente capacidad emulsionante que depende del balance de aminoácidos hidrófobos/hidrófilos que contenga y del método empleado en su obtención. (6). (cuadro 5).

**CUADRO 5.**  
**CAPACIDAD EMULSIONANTE DE ALGUNAS PROTEÍNAS.(6)**

<u>ml. DE ACEITE/ 100 g. DE PROTEÍNA.</u>			
Albumina de huevo	100	Glúten de trigo	13.9
Caseína	40 - 100	Harina de ajonjolí	9.8
Lactoalbumina	79.5	Proteína de levadura	16.4
Harina de cacahuete	9.7	Proteína unicelular	14.3
Harina de soya	12.0	Harina de pescado	10.8

### **2.3. MODIFICACIONES DE LAS PROTEÍNAS BAJO DIFERENTES TRATAMIENTOS.**

#### TRATAMIENTOS A ALTAS TEMPERATURAS.

La mayoría de las proteínas para consumo humano reciben de alguna manera

un tratamiento térmico durante su preparación. En general el cocido aumenta la disponibilidad de las proteínas. Sin embargo, en ciertos casos un calentamiento excesivo puede reducir su valor nutritivo. Este depende de la digestibilidad biológica de los aminoácidos, o sea, que para que una proteína sea de buena calidad, requiere que sus constituyentes sean fácilmente metabolizados. El valor nutritivo de las proteínas puede disminuir por cualquier reacción inducida por el calor que produzca la destrucción o una reducción en la digestión, la absorción o utilización de un aminoácido disponible. (44)

Los cambios químicos en las proteínas catalizados por el calor son muy variados y dependen de la susceptibilidad de sus diferentes aminoácidos, existiendo reacciones de desulfuración, deshidratación, oxidación, ciclización y descomposición. En cualquiera de estos casos los aminoácidos se vuelven indisponibles para el humano con la consecuente reducción del valor nutritivo de la proteína. (3, 44).

Muchos de estos cambios suceden en situaciones verdaderamente drásticas de calentamiento y se presentan escasamente en las condiciones normales de procesamiento de alimentos.

Algunos tratamientos térmicos son necesarios para mejorar el valor nutritivo de los alimentos, como en el caso de las proteínas vegetales, en donde existen factores antifisiológicos que requieren de un calentamiento para ser eliminados y así aumentar la calidad del producto final. Es necesario pro-

porcionar un tratamiento térmico óptimo para eliminar los factores antifisiológicos sin afectar las características nutricionales y organolépticas. La disponibilidad biológica de algunos aminoácidos se mejora en cereales que han recibido tratamiento térmico. (14, 40, 55, 70).

#### REACCIONES ENTRE PROTEINAS.

En ausencia de azúcares reductores las proteínas están sujetas a diferentes reacciones químicas catalizadas por el calor, que proporcionan una reducción del valor nutritivo del alimento. Estos cambios se presentan en condiciones de tratamientos excesivos que no se requieren necesariamente durante la manufactura de los alimentos. En el caso de reacciones entre proteínas se forman nuevas uniones químicas entre aminoácidos que hacen menos digerible la proteína. Los aminoácidos que intervienen en estos nuevos enlaces pueden ser recuperados a través de la hidrólisis ácida de la proteína que sufrió las modificaciones. (31).

El grupo amino de la lisina puede reaccionar con los grupos carboxilo de los aminoácidos aspártico y glutámico o con la amida de la glutamina o aspargina produciendo enlaces isopéptidicos en la proteína. El término isopéptidico se usa para diferenciar este nuevo enlace de las uniones peptídicas normalmente encontradas en los polipéptidos. (31).

La formación de enlaces isopéptidicos le confiere a las proteínas una estructura muy rígida que hace que las proteasas del intestino humano no tengan

libre acceso sobre su sustrato, por lo que la proteína se vuelve poco metabolizable. Sin embargo, es probable que si dicha proteína permaneciera más tiempo del normal en contacto con las enzimas digestivas, podría ser hidrolizada completamente y aprovechada como cualquier otra. (31).

#### RACEMIZACION.

Durante el proceso de tostado y el calentamiento directo de proteínas se propician diferentes reacciones químicas que inducen la racemización de algunos aminoácidos y que se aceleran considerablemente a pH alcalino. La racemización de los L aminoácidos comúnmente encontrados en las proteínas, es una mezcla racémica de D y L-isómeros. Los D-aminoácidos no son aprovechados por el humano para sintetizar sus propias proteínas, sino que sólo se emplean como fuente energética, por lo que se reduce el valor nutritivo de la proteína que haya sufrido estas reacciones de racemización. (26).

#### TRATAMIENTOS A BAJAS TEMPERATURAS.

La velocidad a la cual se efectúa el congelamiento es un factor que determina la intensidad del daño que el alimento sufre. La composición del medio influye en la estabilidad de las proteínas, ya que las sales y los compuestos de bajo peso molecular tienden a encontrarse en una porción de agua no congelada, lo que produce un cambio en el pH y un aumento considerable en la fuerza iónica del sistema. Las temperaturas de congelamiento favorecen la formación de puentes de hidrógeno entre moléculas de proteína y entre éstas

y las moléculas de agua, lo que hace cambiar la conformación tridimensional de la proteína. Los sistemas de estabilidad de la proteína se ven afectados ya que los aminoácidos se ionizan con dificultad y por lo tanto puede haber una agregación de estos polímeros.

Los ciclos de congelamiento/descongelamiento son dañinos para la mayoría de los alimentos pues produce una total desnaturalización y agregación de sus proteínas. (9).

#### TRATAMIENTOS ALCALINOS.

Estos tratamientos se usan con la finalidad de mejorar la calidad nutritiva o para obtener ciertas propiedades funcionales de estos polímeros. Se usa en la elaboración de proteínas de soya como sustituto de la carne, para la destrucción de aflotoxinas en algunos granos, en la fabricación de aislados y concentrados de proteínas y en el pelado de frutas y vegetales. (10, 25, 57,59)

El primer paso es un desdoblamiento de la proteína original, seguido de un rearreglo de los grupos sulfhidrilo y disulfuro y finalmente la orientación de fibras debido a la acción de un ácido y de la fuerza mecánica que le imparte la extrusión. (28)

El principal inconveniente de los tratamientos alcalinos es que se induce la formación de nuevos aminoácidos como la lisino-alanina (LAL), la lantio-

nina y la ornitinoalanina. La producción de LAL sucede a través de una reacción de beta-eliminación entre la cisteína o la serina y los grupos amino de la lisina. La reacción se efectúa en dos etapas:

1.- Formación de dehidroalanina.

2.- Condensación del grupo amino de la lisina con la doble ligadura de la dehidroalanina. (4). (Fig. 4).

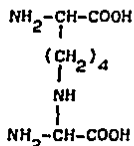


Fig. 4. LISINOALANINA (LAL). (20)

La reacción se acelera al aumentar la temperatura, a partir de la dehidroalanina y la arginina. (1, 20).

La interacción de cadenas adyacentes de proteínas durante la producción de estos nuevos aminoácidos forma una red tridimensional rígida, sobre la cual la enzimas proteolíticas del intestino humano no pueden actuar, reduciéndose la disponibilidad de aminoácidos. El valor nutritivo de la proteína disminuye con estos tratamientos y además el consumo de LAL puede producir reacciones nefrotóxicas. (31, 72).

#### 2.4. PROPIEDADES FUNCIONALES.

Las propiedades funcionales de las proteínas se han definido como: Cualquier propiedad físico-química que afecta el comportamiento y las características de un alimento y que contribuye a la calidad final del producto. (38).

Estas propiedades dependen de las interacciones de las proteínas con los - otros constituyentes de los alimentos como carbohidratos, lípidos, agua y - sales. Influyen en ellas el pH, temperatura, fuerza iónica, la constante - dieléctrica del medio, concentración y especie de proteína y el tratamiento térmico previo que sufrió la proteína durante su obtención. (38).

Estas propiedades y funciones se dan a continuación: (cuadro 6).

##### CUADRO 6.

##### PROPIEDADES FUNCIONALES DE LAS PROTEÍNAS EMPLEADAS EN ALIMENTOS. (38).

---

<u>PROPIEDAD</u>	<u>FUNCION</u>
Hidratación.	Solubilidad, dispersión, absorción de agua, espesante, gelificante, viscosidad, formación de masas y propiedades reológicas en general.
Estructural y reológica.	Elasticidad, cohesión, formación de redes tridimensionales, formación de fibras, viscosidad, - agregación , gelificación.

Organoléptica.	Color, olor, sabor, textura, turbidez, arenosidad, etc.
Superficie.	Emulsificación, espumante, estabilización, formación de complejos lípido-proteicos.
O t r a s .	Compatibilidad con aditivos, acción enzimática <u>y modificación de propiedades de los alimentos</u>

Existen muchos métodos para determinar las propiedades funcionales de las -  
proteínas. Sin embargo, la extrapolación de estos datos a un sistema comple-  
jo, como lo es un alimento no es representativo. La mejor manera de obtener  
información sobre dichas propiedades es usar la proteína en forma directa -  
en el alimento y posteriormente observar su comportamiento. (35).

Las proteínas pueden formar geles, emulsiones y espumas que imparten las ca-  
racterísticas de textura propias de cada alimento, contribuyendo al color y  
sabor mediante reacciones de oscurecimiento no enzimático.

Aumentan la viscosidad de los sistemas en que se emplean debido a que pueden  
retener y absorber el agua lo que es muy importante en alimentos que requie-  
ran una consistencia o viscosidad determinada como en sopas. La facilidad  
de las proteínas para formar geles depende de su capacidad para integrar -  
una estructura tridimensional en la que el agua pueda quedar atrapada. La



acción de las enzimas proteolíticas sobre las proteínas genera <sup>1)</sup>compuestos - de bajo peso molecular que imparten sabores a los alimentos. (35, 41).

## 2.5 GRUPOS AZUFRADOS.

Dentro de las proteínas el átomo de azufre se encuentra en diferentes formas químicas que dependen de su estado de oxidación, básicamente existen como sulfhidrilo SH o forma parte de un enlace disulfuro S-S, ya sea intra o intermolecular. (65).

A su vez los sulfhidrilos pueden ser activos o inactivos y una misma proteína puede contenerlos junto con los grupos disulfuro. Debido a la gran importancia que tienen en las proteínas existen varios métodos empleados para su identificación y cuantificación. Los grupos azufrados de las proteínas son altamente reactivos y pueden intervenir en muchas reacciones que influyen en las propiedades y características de los alimentos. Muchos cereales tienen sus cadenas de proteínas unidas en forma transversal a través de enlaces disulfuro. El gluten del trigo es un complejo proteico compuesto por dos fracciones: una prolamina llamada gliadina y una glutelina llamada glutenina que se pueden separar por una precipitación selectiva con alcohol y ácido. (65).

La gliadina se encuentra estabilizada por enlaces disulfuro intramoleculares; las gluteninas constan de cadenas de polipéptido unidas por enlaces di

sulfuro intermoleculares pero además contienen algunos intramoleculares. Las gluteninas son las responsables de las propiedades elásticas y cohesivas de la harina y de la masa de trigo en el proceso de manufactura del pan.

El uso de agentes oxidantes para la harina de trigo en la industria de la panificación se considera como un proceso de oxidación de los grupos sulfhidrilo para formar enlaces disulfuro, que contribuyen a la red tridimensional requerida en este producto; en dicha red queda atrapado el  $\text{CO}_2$  que se produce durante la fermentación, de tal manera que la masa se esponja. (17).

Una vez que los enlaces disulfuro han sido hidrolizados, su reoxidación no se efectúa a través de los mismos sulfhidrilos que los constituían originalmente, sino que existe un rearrreglo de grupos de formación de nuevos enlaces, de tal manera que no siempre siguen el mismo camino para las uniones disulfuro. Las proteínas que han sufrido un intercambio de grupos azufrados tienen propiedades muy diferentes a las de la proteína original. Este intercambio es importante en el mejoramiento de las propiedades reológicas de la masa del trigo utilizada en la panificación.

Los esfuerzos mecánicos a los que se sujeta la masa durante el mezclado inducen el intercambio de grupos disulfuro debido a que las proteínas tienen una mayor facilidad de interacción con ellas mismas; el resultado es la formación de una red tridimensional de proteína, con las propiedades elásticas requeridas para la obtención de una estructura adecuada. (42).

La agregación de la ovoalbúmina del huevo o de la albúmina del plasma bovino, a través de tratamientos térmicos o con disolventes implica un intercambio de enlaces disulfuro de intramoleculares a intermoleculares. (65)

La adición de beta-lactoglobulina al gluten de trigo causa una reducción en el volumen final del pan, ya que la beta-lactoalbúmina contiene grupos sulfhidrilo muy activos que fácilmente pueden reaccionar y romper los enlaces S-S de la glutenina y gliadina inhibiendo la formación de la estructura proteica tridimensional de la masa. El suero de la leche se puede utilizar en la manufactura del pan siempre que se le sujete a un tratamiento térmico suficiente para desnaturalizar la beta-lactoglobulina y evitar la acción de los grupos sulfhidrilo. (36)

## 2.6 NECESIDADES DE PROTEINAS EN EL MUNDO.

Por lo que se refiere a la escases mundial de alimentos, está alcanzado un estado de crisis más grave que ningún otro conocido hasta ahora.

Actualmente la población esta aumentando más rápidamente que la producción de alimentos, de manera que la escacés general se esta agravando. El 80% de tierra utilizable para la agricultura se encuentra ya bajo cultivo; la productividad potencial es menor del 20% en la tierra restante. Los recursos alimenticios del mar han sido explotados solo parcialmente y grandes masas de la población hambrienta están lejos del mar. En donde el incremento de -

población y el hambre son mayores, los rendimientos agrícolas de tierra y animales son más bajos. Esta situación puede mejorar mediante la aplicación intensiva de tecnología, pero en donde existe mayor necesidad de ésta, hay a la vez menos capital con que obtenerla. (16)

Los países más desarrollados no tienen excedentes suficientes que exportar para alimentar toda la población hambrienta. Aún si los tuviera, los problemas relacionados con el traslado de alimentos a las áreas de necesidad, descontarían esta posibilidad como una solución en la mayoría de los casos. (53).

La libre empresa con la ganancia como incentivo ha proporcionado hasta ahora el mejor estímulo en la producción de alimentos. Tecnología, equipos, fertilizantes y productos químicos para el control de plagas son más importantes como exportaciones a los países en más desarrollo que los excedentes de alimentos. Pero donde hay mayor necesidad de ellos escasea el capital requerido para adquirirlos. (53).

En donde el hambre es más aguda, se supondría que los métodos más radicales para combatirla obtendrían los mejores resultados. Pero es precisamente en estas regiones que el analfabetismo, el conservadorismo y la tradición se resisten a aceptar métodos nuevos. La educación de campesinos en la producción de alimentos puede ayudar a una región a aumentar la cantidad cultivada, pero sin el desarrollo simultáneo de sistemas de transporte, conserva--

ción, procesamiento y venta no se puede lograr mejoras de largo alcance en la situación alimentaria general. (51).

Las causas y factores que contribuyen a condiciones de inanición están interrelacionados de manera que forman un ciclo descendente en la pobreza perpetúa, analfabetismo y hasta salud, los cuales resultan en baja productividad, que a su vez produce más pobreza. Si el actual índice de crecimiento se sostiene, se calcula que la población del mundo excederá a los 6 mil millones para el año 2,000. La velocidad actual de producción de alimentos, - está lejos de alcanzar la del incremento de la población.(16).

## 2.7 FUENTES DE PROTEINAS.

### PROTEINAS DE LA LECHE.

El suero de la leche, subproducto de la manufactura de quesos, contiene proteínas de muy buena calidad, tanto nutritiva como funcional que pueden ser recuperadas por diferentes métodos para obtener productos que contengan 35 a 60% en base seca. Estas proteínas son solubles en un intervalo de pH muy amplio y fáciles de coagular con calor. Su alto contenido de aminoácidos - azufrados las hacen adecuadas como complemento nutritivo de proteínas como las de soya y otros de origen vegetal. La beta-lactoglobulina reduce el volumen del pan por lo que limita su uso en esta industria. Los caseinatos se producen por una precipitación ácida de las proteínas de la leche en presenu

cia de calcio, poseen muchas propiedades funcionales. Tienen buena distribución de aminoácidos hidrófilos e hidrófobos, presentan características adecuadas como estabilizantes, emulsionantes y tienen la capacidad de absorber agua, mejorando la textura de embutidos y conservando los productos cárnicos con la humedad requerida durante su cocimiento y almacenamiento. Las propiedades de espumado y de emulsión son superiores a los que presentan las proteínas del suero de la leche. Los caseinatos pueden producir muchas reacciones indeseables que conducen a la formación de sabores desagradables durante el almacenamiento de los alimentos que los contengan. (36).

#### PROTEINAS DE LA CARNE.

Por su función las proteínas de origen animal se han dividido en:

- Contráctiles (miofibrilares).
- Sarcoplásmicas.
- De tejido conectivo (estroma).

Las proteínas solubles son las de los tejidos miofibrilares y las sarcoplásmicas. Las del tejido conectivo son insolubles. La principal característica de las proteínas solubles es su poder emulsionante y su capacidad de absorción de agua por lo que evitan las pérdidas de humedad, en la cocción de productos cárnicos y sus derivados; tienen capacidad de coagular formando geles de textura apropiada en varios alimentos. (9, 15, 21).

En la manufactura de embutidos se utilizan diferentes concentraciones de carne con caseínatos y algunas proteínas de origen vegetal. La incorporación de estos debe efectuarse adecuadamente para que puedan ejercer las propiedades funcionales de una manera más efectiva. Se requiere que las proteínas se solubilizcen completamente para que interaccionen más estrechamente con los globulos de grasa y formen una emulsión estable que resista los tratamientos térmicos subsecuentes y que retenga cierta cantidad de humedad durante el almacenamiento. (10, 21, 38, 44, 71).

La gelatina es la proteína animal más ampliamente usada como ingrediente en alimentos y se obtiene a partir del tejido conectivo de los huesos. La gelatina forma geles termorreversibles a bajas concentraciones. Los geles se forman al dispersar la proteína en agua, requiriendose un ligero calentamiento para romper los puentes de hidrógeno intermoleculares y aumentar la solubilidad de las moléculas; el subsecuente enfriamiento induce la formación de una estructura semi-rígida y elástica debido a la interacción tridimensional de las moléculas del polímero. La gelatina puede tener reacciones de hidrólisis, ya sea por ácidos o enzimas proteolíticas. (24, 61).

#### PROTEINAS DEL HUEVO.

El uso más importante es la formación de espumas. La albúmina tiene la capacidad de desnaturalizarse fácilmente y formar una interfase aire/líquido (espuma) muy estable. Dentro de las albúminas del huevo, la ovoalbúmina es

la responsable de la cantidad de espuma producida mientras que la ovomucina actúa como agente estabilizador. Las albúminas disminuyen su capacidad de espumado cuando se contaminan con los lípidos de la yema, lo que se debe a que cuando los globulos de la grasa se rompen liberan grasa que interactúa con las proteínas e inhibe la formación de espuma. La solubilidad de las proteínas del huevo se ve afectada por las reacciones de oscurecimiento de Maillard, por lo que se recomienda eliminar la glucosa residual del huevo deshidratado usando la enzima glucosa-oxidasa. Las proteínas de la yema tienen mejores propiedades emulsionantes que las de la clara, debido a la alta concentración de lecitina que contiene la yema. (8, 21, 67).

#### S O Y A .

La leche de soya fue producida originalmente a escala comercial para la alimentación de niños alérgicos a la leche de vaca. Estos alimentos tienen un sabor muy peculiar que no es aceptado por el paladar occidental. Esto se ha solucionado en parte al escaldar rápidamente la soya e inactivar las enzimas que producen los compuestos volátiles responsables del sabor. (36).

#### CACAHUATE.

En la India se produce una leche de cacahuete que se utiliza para complementar la leche de búfalo consumida en ese país. Esta mezcla tiene propiedades muy similares a las de la leche de vaca. Las aflotóxicas del cacahuete se eliminan con un tratamiento con peróxido de hidrógeno. (36, 48, 57).



C O C O .

El coco se deshidrata para obtener la copra de donde se extrae el aceite. El residuo de esta extracción contiene 18-25% de proteína con una textura muy fibrosa para ser consumida por el humano, por lo que se vende como alimento para animales. Se ha utilizado el coco en la producción de leche vegetal; - puesto que ya existe la tecnología para su elaboración en forma deshidratada, descremada y con buenas propiedades nutritivas. (22).

PROTEINA DE ORIGEN MICROBIANO.

El término genérico que se utiliza para referirse a este grupo de proteínas es el de **PROTEINA UNICELULAR**. A continuación se señalan los diferentes microorganismos utilizados para la producción de proteína unicelular a partir de sustratos renovables y no renovables (cuadro 7 ). La selección del microorganismo está determinada por el uso final que se persiga con la proteína, es decir, depende de si es para uso humano o animal. También influye el costo del proceso y - disponibilidad del sustrato.

**CUADRO 7.**

**SUSTRATO PARA PRODUCCION DE PROTEINA UNICELULAR. (45):**

<u>S U S T R A T O</u>	<u>TIPO DE ORGANISMO</u>
1. RENOVABLE:	
CO <sub>2</sub> - Luz solar.	Alga: <u>Spirulina maxima.</u>

Bacteria fotosintética: Rhodospseudomona gelatinosa.

Celulosa.

Bacteria celulolítica: Brevibacterium sp.

Actinomiceto termófilo: Thermomospora sp.

Azúcares y almidones.

Hongo: Trichoderma viride.

Levadura: Saccharomyces cerevisiae; candida utilis; Kluyveromyces fragilis.

Hongo: Aspergillus niger; Fusarium semitecticum; Endomycopsis fibuligera.

## 2. NO REMOVABLE.

Metano.

Bacteria: Methylococcus capsulatis; Hypomicrobium sp.

Alcanos.

Bacteria: Acinetobacter cerificaus; Pseudomona sp.

Levadura: Candida lipolytica; Candida tropicalis.

Etanol.

Bacteria: Acinetobacter calcoaceticus.

Levadura: Candida utilis.

Metanol.

Bacteria: Pseudomona sp.

Levadura: Hansenula polimorpha; torulopsis me-  
thanosorbosa.

Desechos químicos  
industriales.

Levadura: Candida pseudotropicalis; Candida -  
lipolytica.

Hongo: Trichosporum cutaneum.

---

El alga espirulina constituye un buen alimento debido a que su composición de aminoácidos esta bien balanceada, aunque es ligeramente deficiente en metionina y muy rica en tirosina y serina.

El contenido de proteína de la espirulina es de 60 a 70% en base seca, y por lo tanto se se puede considerar como un concentrado. Actualmente se usa como nutrimento en la acuicultura y existen trabajos sobre la utilización en la fortificación de alimentos para consumo humano. (44).

El suero de la leche es uno de los desechos industriales más empleados en la producción de etanol y proteína unicelular a partir de la levadura Saccharomyces fragilis; la levadura Candida utilis puede crecer en los desechos de la industria del papel ya que utiliza las pentosas provenientes del procesamiento de la pulpa de la madera. (45).

El principal inconveniente de la proteína unicelular y por la cual su uso -

ha sido restringido, se debe a su alto contenido de ácidos nucleicos que pueden tener efectos tóxicos para el ser humano. El consumo de una gran cantidad de ácidos nucleicos causa problemas fisiológicos debido a que el ácido úrico proveniente de la degradación de las purinas se insolubiliza en el hígado y forma cálculos, este efecto también se refleja en el desarrollo de artritis y la gota. La eliminación de ácidos nucleicos en la proteína unicelular se puede efectuar por métodos químicos o enzimáticos; el ácido clorhídrico a pH 1.0 - 1.5 y álcalis a pH 10 - 12.5 se han utilizado para este fin. (45).

#### PROTEINA DE LA FAUNA MARINA.

Existen muchas variedades de peces de gran abundancia en los mares y que no son consumidos por el hombre. La fauna de acompañamiento del camarón es muy abundante y en algunos casos totalmente desperdiciada ya que se devuelve nuevamente al mar. La producción de harina de pescado a partir de dicha fauna es una buena forma de aprovecharla. También se pueden producir concentrados proteicos a partir del tejido miofibrilar de las distintas especies de la fauna de acompañamiento, para lo cual se hace reaccionar el anhídrido acético o anhídrido succínico a pH alcalino y después se añade ácido clorhídrico para precipitar la proteína. Los lípidos residuales se eliminan a través de una extracción con isopropanol a 70°C y el residuo se neutraliza con el hidróxido de sodio, lo cual causa la solubilización de la proteína que se deshidrata posteriormente. Se considera que la primera reacción sucede entre los grupos amino nucleofílicos de la proteína y los grupos electrófi-

los de las moléculas de anhídrido, con la consecuente formación de una amida. Así mismo pueden ser acilados otros grupos funcionales de las proteínas como son los OH de la tirosina, treonina y serina y los SH de la cisteína. (2, 60).

#### PROTEINAS DE HOJAS.

Las hojas verdes son la mayor fuente de proteínas en el mundo; sin embargo, a excepción de algunas como las espinacas y la alfalfa, el resto solamente se utiliza para la alimentación animal. (52).

El valor nutritivo de los concentrados de proteínas de hojas es muy alto y puede ser comparado con algunas proteínas de origen animal. (39).

Las hojas no se han utilizado en mayor escala debido a que sus propiedades funcionales son muy pobres, pero se han hecho estudios muy completos de los posibles usos de las proteínas de hojas para consumo humano. (52).

#### PROTEINAS DE CEREALES Y SEMILLAS.

Existen muchos cereales y semillas con un alto valor nutritivo que actualmente son poco utilizadas. En Perú, Bolivia y Argentina se cultivan algunos cereales como la quinoa (*Chenopodium quinoa*) y la canihua (*C. pallidicalae*) que tienen un alto contenido proteico. En Etiopía y Sudáfrica, crecen cerea

les que tienen la posibilidad de convertirse en un buen alimento para poblaciones locales (31, 42). En México, los cereales y semillas más consumidos son: arroz, frijol, avena, trigo, maíz.

## 2.8. LA PLANTA DEL JITONATE.

*Solanum lycopersicum*.

*Lycopersicum esculentum* Mill.

### DESCRIPCION BOTANICA.

La tomatera es una planta herbácea, anual, algo vellosa, de tallo, primero, erecto y después descendente con muchas ramificaciones y que puede alcanzar desde 0.50 m de altura (en las variedades enanas) hasta 1.50 m. Las hojas son alternas imparapinadas de 15 a 45 cm de largo, desigualmente pinadopartidas en 5 a 9 segmentos acorazonados-aovados, de 5 a 7 cm de largo, hendido - dentados. Flores amarillas en cimas corimbiformes y con los pedicelos articulados; caliz herbáceo y persistente, corola con su limbo hendido en 5, 6 o más partes, 5, 6 o más estambres insertos en la garganta de la corola y salientes, los filamentos cortísimos y las antenas oblongocónicas, trabadas con una membrana que sobresale del ápice y se habren por una hendidura longitudinal; ovario bi-trimultilocular y las placentas pegadas al disepimento y multiovuladas.

El fruto tomate pertenece a los frutos simples, carnosos, indehiscentes y polispermos y es por lo tanto una verdadera baya. Su tamaño es variable, de forma redondeada, bastante deprimida en su base y con surcos meridianos espa

ciados desigualmente de distinta profundidad y poco marcados en algunas variedades. Su superficie es lisa y esta formada por un epicarpio delgado pero algo resistente y brillante al exterior. Verde antes de la maduración, se convierte producida esta en un rojo vivo.

Interiormente esta dividido en 7 celdas desiguales llenas de sustancia pulposa rojiza y acuosa en la que se hallan las semillas. El olor es aromático, característico y el sabor agrídulce. Existen algunas variedades de fruto amarillo y una variedad blanca (62) .

#### CLIMA.

La tomatera puede cultivarse desde el clima tropical hasta el frío pero debe aplicarse prácticas apropiadas a las diversas condiciones de suelo y ecológicas, además de los artificios usuales en las distintas épocas del año.

No le convienen los climas húmedos, como tampoco las heladas tardías. Resiste los vientos marinos. En las zonas calurosas y secas se produce la caída de brotes (62).

#### DISTRIBUCION GEOGRAFICA.

En el valle del mezquital, las siembras se hacen en Enero, Febrero, Marzo y Abril, lo que da cosechas desde Mayo hasta Agosto o Septiembre.

En Veracruz y en el Noreste hacen las siembras desde Agosto hasta Enero y se cosechan desde Diciembre hasta Mayo.

En Morelos hay siembras de Junio a Agosto que dan cosechas desde Septiembre hasta Diciembre.

En el Bajío se siembra de Noviembre a Marzo y se cosecha de Marzo a Julio - (11).

#### PREPARACION DE LA TIERRA.

La tomatera crece en todas las tierras pero la que más le conviene son las arenosas y algo arcillosas. Estas tierras deben prepararse previamente abonandolo con estiércol seco de establo bien descompuesto. Exige laboración profunda del terreno antes del invierno y en la primavera trabajo de rastri- llo extirpador.

En primavera antes de la siembra se debe emplear 500 Kg de perfosfato, 200 - Kg de cianamida de calcio, 200 Kg de sulfato de potasio por hectárea. La reacción del ovulo más favorable es a pH = 5.5 - 7.0. (11, 62).

#### MULTIPLICACION.

La tomatera se multiplica comúnmente de semillas, pero también aunque en menor escala por gajos e injertos (62)



SEMILLAS.

Las semillas del jitomate pueden sembrarse hasta 4 años después de cosechada; tarda de 5 a 8 días en germinar (11).

Antes de ser sembrada la semilla debe ser desinfectada. Para lo cual se sumerge durante 1 minuto en sulfato de cobre al 1% (Arosán, Ethiodán o Captán) (11, 62).

Cuando se va a sembrar conviene humedecer la semilla para que se hinche durante algunas horas. (11)..

FORMAS DE CULTIVO.

Cultivo casero. Entre paredes o muros. Se conserva en producción durante todo el año.

Tardío. En costas cerca del agua.

Industrial de asiento o de tierra con riego.

De secano. Clima subtropical con lluvias de más de 1 mm.

De asiento. En los valles, siembra en bordos o camellones en Octubre con riego.

De cosecha en verano-otoño en clima cálido.

Ivernáculos, clima frío con o sin calefacción.

Subtropical al aire libre, con sombra siembra en otoño.

Templado.

Clima frío tapado con polietileno.

Producción en altitudes, sierras.

(5E).

En México, lo más común es sembrar el jitomate poniendo primero la semilla en un almácigo o semillero para después transplantar la plantita o sembrarlo directamente en el terreno donde se va a cultivar.

#### SIEMBRA EN ALMACIGOS Y TRANSPORTE.

En los almácigos o semilleros se siembran los jitomates para cuidar mejor las plantas pequeñas, se usa tierra muy fría y desinfectada y las plantas se protegen del frío y calor extremos.

Se les pone tierra preparada con 25% de arena de río, 50% de tierra y 25% de estiercol podrido. Esta mezcla debe cernirse para que quede bien homogenizada y suave.

Para evitar plagas se le añade formol al 20%, luego la tierra se cubre con costales, periódico o plástico para evitar la evaporación del formol, se deja así 24 horas.

Después se destapa, y se deja ventilar la tierra por 2 o 3 semanas para que quede lista para la siembra. Otra manera es empapar la tierra que se va a usar en el almácigo con agua hirviendo. (11).

Para 1 hectárea de terreno se necesita un semillero de 30 m<sup>2</sup> y 300 g. de semilla (11).

Para sembrar en la tierra nivelada se hacen surcos de 1 o 2 cm de hondo a todo lo largo dejando 10 cm entre uno y otro.

Se pone la semilla a chorro y se cubre con una capa de tierra preparada. El almácigo se riega con regadera fina cuidando que el agua caiga suave para que no arrastre la semilla.

El almácigo se protege con una aspillera o bastidor. El almácigo debe estar libre de yerbas para que las plantas puedan crecer. A los 15 días de la siembra se quitan las plantas que ya han germinado para dejar una cada 5 cm hasta el transplante. (11).

Cuando las plantas tienen 10 a 15 cm de alto se transplantan al lugar definitivo de cultivo.

Las plantitas se siembran en surcos separados cada 1.20 m y de 1.50 a 2.0 m de distancia para el cultivo de piso.

La tierra debe estar húmeda y se riega en verano una vez terminado el transplante (11).

#### SIEMBRA DIRECTA.

La siembra directa se usa en la tierra de temporal y en terreno preparado y con surcos. En la siembra directa se necesitan de 1 a 2 Kg de semilla por hectárea. Se hace la siembra de acuerdo con la temporada de lluvias.

En los surcos se hacen hoyos cada 30 cm y en cada uno se ponen 10 semillas de jitomate, se cubren con estiércol podrido o tierra. Al mes se hace el primer aclareo dejando 3 plantas por mata. Al mes y medio de la siembra se hace otro aclareo dejando una planta por mata. (11).

#### RIEGO.

Al jitomate se le dan de 7 a 8 riegos desde la siembra hasta la cosecha (11).

#### CULTIVO Y COSECHA.

El primer desyerbe se hace con azadón a los 15 días del transplante y se aprovecha para aterrar a las plantas que hayan perdido un poco de tierra. -

Después de las lluvias fuertes hay que revisar el cultivo y desenchancar donde se haya acumulado el agua, arreglar la tierra donde se haya deslavado. Para cuidar las plantas de las heladas o el calor interno se debe proteger el cultivo con bastidores o enramadas que no tengan plaga (11).

#### CULTIVO DE PISO.

En el cultivo de piso se dejan crecer las plantas de jitomate libremente por el suelo y se van cuidando de ponerles tierra cuando se necesita para conservar el surco, cuando las plantas empiezan a aflorar para que estén firmes y los jitomates no se caigan, sobre todo cuando llueve. Hay que darles un riego cuando se hacen desyerbes (11).

#### CULTIVO DE ESTACADO.

En el cultivo de estacado se ponen varas y alambres para sostener las plantas y así producir mayor cantidad de frutos que se cosechan durante más tiempo.

El corte se hace en la madurez deseada. En este cultivo las platitas pueden podarse para mejores resultados y se hacen cuando las plantas ya tienen la horqueta en la primera inflorescencia, se corta para que desarrolle un segundo tallo, que se deja crecer a que tengan otros dos y se cortan los demás para que la planta se quede solo con 4 tallos (11).

Por lo general son suficientes tres podas con 15 a 30 días entre una y otra, así la planta queda bien formada antes de entrar a producción (11).

### ESTACADO REGIONAL.

El regional es un modo de tejer espalderas para sostener el follaje de las plantas de manera que se facilita el cultivo y la cosecha, se hace en la misma fecha de la primera poda. Para hacerlo se usan estacas gruesas de 2.5 m de alto que se meten en la tierra 0.5 m para que queden firmes y separados de 2 a 2.5 m uno de otro y se les ponen 6 a 8 hiladas de alambre de 20 cm una de otra. Entre los estacones se entierran 5 a 7 vara más delgadas que se amarran a las hiladas con Ixtle y las ramas de jitomate se usan poniendo sobre la espaldera para que crezcan hacia arriba. (11).

### ESTACADO COLGADO.

Se hace con plantas que tienen la poda de 2 tallos, se usan estacadas separadas a 2.40 m. Se tiende alambre a 1 m y luego otra hilera en la parte superior. Se unen las hiladas de arriba a bajo haciendo cuadros. Con Ixtle se sujeta la planta abajo de la horqueta y cuando han llegado a su máximo desarrollo se afianza en el alambre de arriba (11).

### COSECHA.

Se cosecha haciendo de 4 a 5 cortes. Entre corte y corte pasan 7 a 10 días. Se debe cosechar según lo lejos se se requiera enviar el jitomate.

Hay tres puntos principales de madurez:

- Verde sazón o 3/4.
  - Rosado o raspado.
  - Pinto o maduro
- (11).

#### PLAGAS.

Gusano alfiler. Este gusano hace en el fruto hoyos del tamaño de una cabeza - de alfiler, dejando el excremento dentro y salen hongos en las hojas. Estos gusanos se convierten en palomitas plateadas que ponen huevos amarillos en las hojas (11).

Gusano del Cuerno. Estos gusanos son de 7 a 10 cm. de largo, con un cuerno rojo o negro en la parte de atrás. Se comen las hojas, flores y frutos (11).

#### ENFERMEDADES.

Ahogamiento o secadera. Cuando el terreno se encharca, las plantas se ponen amarillas y secas (11).

Marchitamiento. Los nervios de las hojas más viejas pierden color, luego toda la hoja se pone amarilla, se marchita y muere (11).

Marchitez. Se parece al marchitamiento pero se da más despacio, la planta - crece muy chica, dando frutos chicos. Las hojas inferiores se van poniendo amarillas, se marchitan y se caen las hojas superiores, se ponen de color

verde obscuro y se arrugan un poco (11).

Tizón temprano. Las hojas salen manchadas, chiquitas, redondas o alargadas de color negro o pardo (11).

Tizón tardío o mancha café o quemazón. Salen manchas cafés en el tallo y luego las hojas y por detrás le salen bellos blancos. En los frutos le -- salen manchas grasientas color café (11).

Moho de la Hoja. En la hoja salen manchas amarillentas que crecen y -- pueden cubrir la hoja completa. En los frutos aparecen manchas negras y amarillas (11).

Antracnosis. Aparecen en las hojas manchas blancas, luego se agujeran y se caén. En los frutos maduros aparecen manchas negras húmedas y luego se -- caén (11).

Mancha Bacterial. En los frutos salen manchas oscuras con la orilla amarillenta y transparentes. En las hojas y tallos aparecen manchas cafés -- amarillentas. La enfermedad crece con la humedad (11).

## **2.9. PROTEINAS EN LA PLANTA (HOJAS Y TALLO) DE JITOMATE.**

Los estudios de la extracción de la proteína dan como resultado a nivel laboratorio de un 11% en base seca, con un balance medio de aminoácidos. El porcentaje obtenido es consecuencia de la aplicación de las condiciones óptimas, que se lo--



graron a través de ajustes de variables como: tiempo de extracción, temperatura de extracción, concentración de solventes, ajuste de pH, etc. (63).

La composición de aminoácidos en la proteína de la muestra se dan a continuación (cuadro 8).

CUADRO 8. (63).

COMPOSICION DE LA PROTEINA

<u>AMINOACIDOS</u>	<u>PORCENTAJE</u>
Arginina	5.55
Acido aspártico	11
Treonina	7.2
Serina	5.75
Acido glutámico	24.7
Prolina	7.3
Glicina	6.35
Alanina	6.0
Cisteína	--
Valina	7.9
Metionina	1.95
Isoleucina	4.75
Leucina	4.75
Tirosina	2.55
Fenilalanina	4.28
Histidina	1.9
Lisina	3.7

## 2.10. NECESIDAD DE ENRIQUECER CIERTOS ALIMENTOS COMO LAS PASTAS ALIMENTICIAS.

En general el consumo de protefnas esta por debajo del nivel adecuado en la dieta, sobre todo para la población de escasos recursos económicos, por lo - que es recomendable enriquecer las pastas alimenticas con protefnas de buena calidad y de un costo accesible como son las protefnas de la planta de jitomate, considerando que las pastas alimenticias son un producto que tiene gran aceptación dentro de las poblaciones de todos los niveles económicos y así - contribuir adecuadamente a la dieta de la población.

Las pastas alimenticias deben tener las siguientes propiedades funcionales: Hidratación, interacción con otros componentes, sin sabor, baja viscosidad, estabilidad al calor. Al añadirle la protefna de la planta de jitomate, debe conservar en la medida de lo posible estas mismas propiedades funcionales.

(35, 38)

CAPITULO 3.

MATERIAL Y EQUIPO.

1. Aparato de destilación Kjeldahl.
2. Aparato de digestión con condensador capaz de contener 600 ml.
3. Balanza analítica.
4. Balanza granataria.
5. Bomba de vacío.
6. Centrífuga. International Equipment, Modelo MB.
7. Estufa eléctrica.
8. Jaulas para animales de laboratorio.
9. Equipo Soxlet.
10. Molino.
11. Mecanismo de filtración que consta de un embudo Büchner modificado con  
.lifronia con malla 200.
12. Mufia.
13. Placa de calentamiento.
14. Potenciómetro.
15. Material común de laboratorio.

CAPITULO 4.

REACTIVOS.

1. Acido sulfúrico 93-98% (v/v) libre de nitrógeno.
2. Oxido de mercurio o mercurio metálico. Grado reactivo, libre de nitrógeno.
3. Sulfato de potasio o sulfato de sodio anhidro, grado reactivo, libre de nitrógeno.
4. Acido salicilico, grado reactivo, libre de nitrógeno.
5. Solución de sulfuro de potasio o sodio o tiosulfato de sodio. Se disuelven 40 g.  $K_2S$  comercial en 1 litro de agua destilada. (Se puede usar 40 g. de  $Na_2S$  o  $Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$  en 1 litro de agua destilada).
6. Hidróxido de sodio en lentejas, o en solución, libre de nitrógeno. Para la solución disolver 450 g. de NaOH sólido en agua destilada, enfriar y diluir a 1 litro. La gravedad específica de la solución será mayor o igual a 1.36).
7. Gránulos de cinc. Grado reactivo.
8. Cinc en polvo.
9. Indicador rojo de metilo. Disolver 1 g. de rojo de metilo en 200 ml. de etanol.
10. Acido clorhídrico o sulfúrico. Solución estándar 0.5 N o 0.1 N cuando la cantidad de nitrógeno es pequeña. Para preparar una solución estándar de HCl para una normalidad de 0.5 se necesitan 43.01 ml. de HCl y

Se afora a 1 litro con agua destilada, cuando el HCl tiene una pureza de 36.5 - 38%.

Para una normalidad de 0.1 se necesitan 8.6 ml. de HCl aforados a 1 litro con agua destilada, cuando el HCl tiene una pureza de 36.5 - 38 %.

Para preparar una solución estándar de  $H_2SO_4$  0.5 N se necesitan 13.81 ml. de  $H_2SO_4$  aforados con agua destilada a 1 litro, cuando el  $H_2SO_4$  tiene una pureza de 95 - 98 %.

Para una normalidad de 0.1 se necesitan 2.77 ml. de  $H_2SO_4$  aforados con agua destilada a 1 litro cuando el  $H_2SO_4$  tiene una pureza de 95 98 %.

11. Solución estándar de hidróxido de sodio 0.1 N. Se preparan 10 ml. de la solución acuosa de NaOH 1 + 1. De esta solución se toman 5.4 ml. y se afora a 1 litro con agua destilada libre de  $CO_2$ . Se comprueba la normalidad de la solución titulando con HCl 0.1 N. Los cálculos se realizan de la siguiente manera usando como indicador solución alcohólica de fenolftaleína.

$$N_1 = V_2 N_2 / V_1$$

$V_1$  = Volumen de hidróxido de sodio que se toma como muestra.

$N_1$  = Normalidad de la solución de hidróxido de sodio.

$V_2$  = Volumen de ácido clorhídrico utilizados en la titulación.

$N_2$  = Normalidad de la solución de ácido clorhídrico.

12. Solución alcohólica de fenolftaleína. Se disuelve 1 g. de fenolftaleína en polvo en 100 - ml. de etanol.
13. Eter etílico anhidro. Lavar el éter con 2 o 3 porciones de agua y adicionar NaOH o KOH sólido, dejar que el agua sea absorbida del éter. Decantar en un frasco seco y adicionar trozos de sodio metálico puro, dejar que cese la producción de hidrógeno. Guardar en frascos completamente secos, adicionar trozos pequeños de sodio y cerrarlos perfectamente. (50)

CAPITULO 5.

PARTE EXPERIMENTAL.

**5.1. MATERIA PRIMA.**

La materia prima utilizada en el desarrollo de esta tesis es: *Lycopersicum - esculentum*. Variedad Grand-Prix. Cultivada en Veracruz, sembrada en el mes de Noviembre y cosechada en Abril. Sembrada directamente y cultivo de piso. Estas plantas se cuidaron especialmente para evitar que tuvieran plagas o enfermedades.

Después de que se cosecharon los frutos, la planta entera se extrajo de la tierra y fue transportada a la Ciudad de México, vía terrestre.

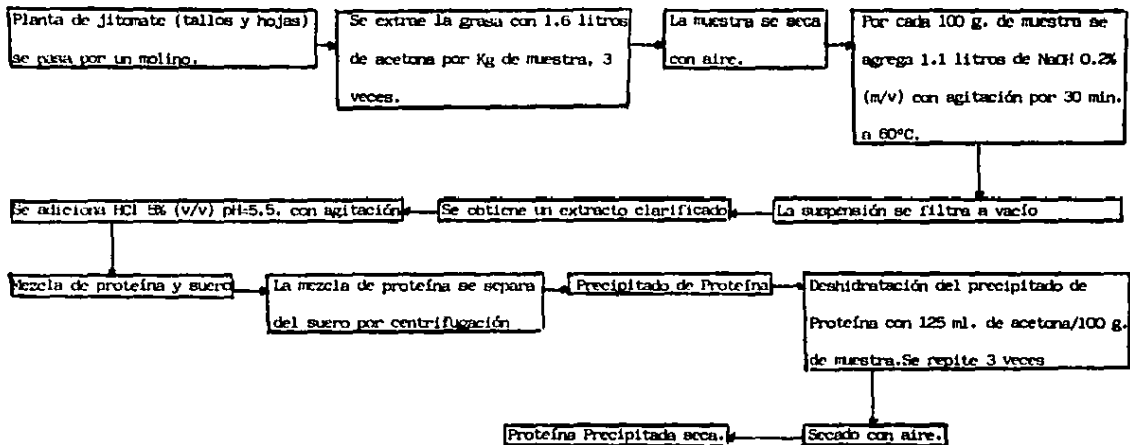
La planta entera al recibirse para este experimento en el laboratorio, se lavo con agua corriente con el fin de quitarle la tierra y materia extraña que traía consigo, para luego proceder a la extracción de la proteína.

La técnica empleada para la extracción de la proteína se muestra en el diagrama 1.

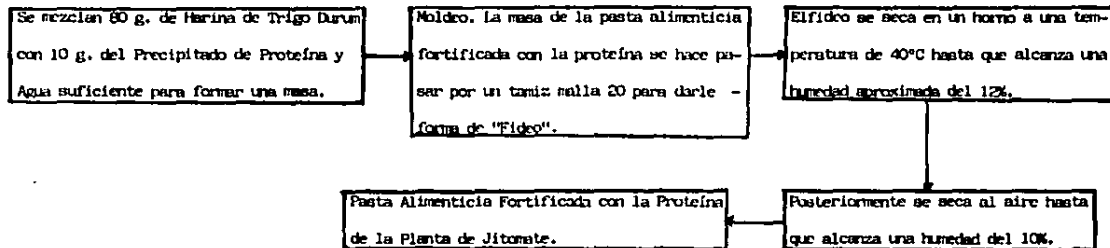
La preparación de la pasta alimenticia fortificada con el precipitado de proteína se muestra en el diagrama 2.

## 5.2 INVESTIGACION EXPERIMENTAL DEL METODO DE EXTRACCION DEL PRECIPITADO DE PROTEINA.

Diagrama 1. Extracción de la Proteína. (63)



**Diagrama 2. Preparación de la Pasta Alimenticia  
Fortificada con la Proteína.**





### 5.3. METODOS DE ANALISIS.

a) DETERMINACION DE HUMEDAD. (Método 7.003).

Se pesa una cantidad aproximada a 2 g. de muestra en un pesa filtros previamente puesto a peso constante. La muestra se mete a la estufa y se seca a una temperatura de 95-100°C por 5 horas aproximadamente. Enfriar en un desecador y pesar. Reportar la pérdida en peso como porcentaje de humedad.(50).

b) DETERMINACION DE NITROGENO.(Método 2.057).

Colocar una muestra pesada de 0.7 a 2.2 g. en el matraz de digestión del destilador Kjeldahl. Adicionar 0.7 g. de óxido de mercurio o 0.65 g. de mercurio metálico, 15 g. de  $K_2SO_4$  en polvo o  $Na_2SO_4$  anhidro y 25 ml. de  $H_2SO_4$ . Si la muestra usada es mayor a 2.2 g. se adiciona 10 ml. de  $H_2SO_4$  por cada gramo de muestra. Colocar el matraz en posición inclinada y calentar suavemente hasta que termine de formar espuma ( si es necesario agregar una pequeña cantidad de parafina para reducir la formación de espuma); hervir vigorosamente hasta que la solución se aclare y continuar hirviendo por dos - horas más.

Enfriar y adicionar 200 ml. aproximadamente de agua, enfriada a una temperatura menor de 25°C, adicionar 25 ml. de la solución de sulfuro o tiosulfato y mezclar para que precipite el mercurio. Adicionar unos pocos gránulos de cinc para prevenir que salpique, inclinando el matraz, y adicionar lentamente resbalando por las paredes y sin agitación NaOH. (Por cada 10 ml. de  $H_2SO_4$  usados o sus equivalentes en disolución de  $H_2SO_4$ , adicionar 15 g. de NaOH en lentejas o solución suficiente para alcalinizar el contenido del matraz)(El tiosulfato o sulfuro puede ser mezclado con la solución de NaOH antes de adicionarlo al matraz). Inmediatamente conectar el matraz en el destilador, sobre este conectar el condensador y con la punta del condensador sumergida en la solución estándar de ácido y 5-7 gotas de indicador rojo - de metilo en el recipiente donde se recibirá el destilado, girar el matraz para mezclar el contenido, después calentar hasta destilar todo el  $NH_3$  (cuando menos 150 ml. de destilado). Remover el recipiente receptor y lavar la punta del condensador y titular el exceso de la solución estándar de ácido con la solución estándar de NaOH. Corregir con el blanco la determinación.

Cálculos:

$$\%N = (V_1 \times N_1) - (V_2 \times N_2) \times 1.4007 / P$$

%N= Porcentaje de nitrógeno en la muestra.

$V_1$  = ml. de la solución estándar de ácido.

$N_1$  = Normalidad del ácido.

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

$V_2$  = ml. de la solución de NaOH.

$N_2$  = Normalidad de la solución de NaOH.

P = Gramos de la muestra utilizados para la determinación.

$$\text{PROTEINA} = \%N \times \text{Factor}$$

Factor = 6.25 para las proteínas en general y 5.7 para productos de trigo.  
(50).

c) DETERMINACION DE CENIZAS. (Método 7.009)

Pesar 2 g. de muestra en un crisol de porcelana previamente puesto a peso - constante y colocarlo en una mufla a 600°C. Calentarlo a esta temperatura - por 2 horas. Transferir el crisol a un desecador, enfriar y pesar inmediata mente. Reportar el porcentaje de cenizas. (50).

d) DETERMINACION DE FIBRA CRUDA. (Método 7.070)

Extraer con éter etílico o con éter de petróleo la grasa de 2 g. de muestra. Si el contenido de grasa es menor de 1% se puede omitir este paso.

Transferir la muestra a un vaso de 600 ml. evitando la contaminación de la fibra. Adicionar aproximadamente 1.5 a 2.0 g. en peso seco de la fibra cerá mica preparada, 200 ml. de  $H_2SO_4$  al 1.25% (m/v) hirviendo y 1 gota de solu- ción antiespumante (El exceso de antiespumante puede dar resultados altos

sólo deberá usarse en caso necesario para el control de la espuma). Adicionar perlas de ebullición. Colocar el vaso en el aparato de destilación con - placa de calentamiento ajustada para que hierva exactamente 30 minutos, rotando el vaso periódicamente para que los sólidos no se adhieran a las paredes del vaso. Revolver el vaso de la placa de calentamiento usando el embudo Büchner California:

Filtrar el contenido del vaso a través del Büchner (recubierto con fibra cerámica, si el material a analizar esta finamente dividido), lavar el vaso - con 50-75 ml. de agua hirviendo agregandosele al Büchner para lavarlo. Repetir con 3 porciones de agua y succionar hasta secar. Remover el material y el residuo con un golpe en la base del Büchner contra la tapa mientras que la cubierta se detiene con el pulgar, regresando la muestra dentro del vaso. Adicionar 200 ml. de la solución de NaOH 1.25% (m/v) hirviendo exactamente 30 minutos. Remover el vaso y filtrar como antes. Lavar con 25 ml. de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1.25%(m/v) hirviendo y 3 porciones de 50 ml. de agua destilada y 25 ml. de alcohol. Remover el material y residuos y transferir a un pesa-filtros previamente puesto a peso constante. Secar el material y residuo 2 horas a - 130± 2°C. Enfriar en un desecador y pesar. Llevar a la mufla por 30 minutos a 600± 15°C. Enfriar en el desecador y pesar.

$$C = (P_m - P_b) \times 100 / P$$

C = Porcentaje de fibra cruda en la muestra molida.

$P_m$  = Pérdida de peso en la ignición.

$P_b$  = Pérdida de peso en el blanco de fibra cerámica.

P = Peso de lamuestra utilizada para la determinación.

(50).

e) DETERMINACION DE GRASA CRUDA. (Método 7.062).

Extraer la grasa cruda a una muestra de 2 gramos aproximadamente previamente seca como en la determinación de humedad. La muestra se deposita en un cartucho de extracción (previamente pesado) con una porosidad tal que permita el paso rápido del éter. El período de extracción puede variar de 4 horas a una velocidad de condensación de 5-6 gotas/seg. o 16 hrs. a 2-3 gotas/seg. Secar la muestra a 100°C por 30 minutos, enfriar y pesar. Reportar como porcentaje de grasa. (50).

f) DETERMINACION DE SUSTANCIAS EXTRACTIVAS NO NITROGENADAS.

Esta determinación se hace por diferencia, restando de 100 los porcentajes de humedad, proteína, cenizas, grasa cruda, fibra cruda. (50).

**5.4. DETERMINACION DE LA RELACION DE EFICIENCIA PROTEINICA.**

(Método 43.254) (7, 32, 50, 64).

Las fuentes de proteína que se incluirán en este estudio se llevaran a cabo de la manera siguiente:

**GRUPO 1: DIETA DE REFERENCIA DE CASEINA.**

**GRUPO 2: DIETA DE PASTA FORTIFICADA.**

**GRUPO 3: DIETA DE PASTA SIN FORTIFICAR.**

Se experimentara con grupos de 8 ratas albinas Sprague Dowley cada uno. El estudio durará 3 semanas. A continuación se explica como se llevara a cabo el experimento.

El primer día se pesan los animales para integrar cada grupo, con ejemplares de pesos semejantes. El rango de peso de los animales debe ser menor o igual a 0.5 g .

Se colocan en jaulas individuales y se les pone 10 g. de la dieta de estudio. Durante los días siguientes se va dando una cantidad de dieta suficiente para que siempre sobre. El alimento y los animales se pesarán los días 1,2,4, 6, 8, 10, 11, 12, 13, 14, 15.

Las dietas en estudio son isocalóricas e isoproteicas.

ANIMALES.

Los animales empleados para este estudio serán ratas albinas Sprague Dowley, machos recién destetados (22 a 23 días de nacidos) que se pondrán en jaulas individuales, cada una de las cuales llevará una etiqueta con un número. Cada animal tendrá agua y alimento suficiente y las jaulas estarán limpias.

CONDICIONES DE LA PRUEBA.

Las jaulas con los animales se colocarán en un lugar con condiciones constantes de luz, temperatura ambiente de 25°C y Humedad relativa de 70%.

DIETA.

Las dietas usadas para este estudio se prepararán al 10% de proteína y se calcularán de la siguiente manera:

$$X = (1.60 \times 100) / \% N \text{ de la muestra}$$

$$\% N = \text{Proteína} / \text{Factor}$$

X = Muestra

% N = porcentaje de nitrógeno de la muestra.

Factor = este factor es diferente para cada proteína y es:

6.25 para proteínas en general

6.38 para caseína

5.7 para productos de trigo.

1.6 = Constante para calcular el porcentaje de proteína de cada dieta.

Aceite de semilla de algodón:

$$8 - (X \times \% \text{ de extracto étere})/100$$

Mezcla de sales USP:

$$5 - (X \times \% \text{ cenizas})/100$$

Mezcla de vitaminas:

1

Celulosa:

$$1 - (X \times \% \text{ fibra cruda})/100$$

Agua:

$$5 - (X \times \% \text{ humedad})/100$$

Sacarosa o miel de maíz hasta completar 100.

Se calienta el aceite a una temperatura entre 70 y 82°C se le añade la proteína, la sacarosa se agita constantemente, se agrega el agua, la celulosa, se calienta por 5 minutos más. Se retira de la placa de calentamiento, se le añade la mezcla de sales, se enfría a temperatura ambiente y se le agrega la mezcla de vitaminas.



CAPITULO 6.

RESULTADOS.

6.1. ANALISIS BROMATOLOGICO DE LA PLANTA DE JITOMATE SIN SUFRIR EL PROCESO DE EXTRACCION.

CUADRO 9.

<u>DETERMINACION (%)</u>	<u>BASE HUMEDA</u>	<u>BASE SECA</u>
Humedad	6.10	---
Proteína *	9.90	10.54
Cenizas	0.05	0.05
Fibra cruda	79.90	85.10
Grasa cruda	0.19	0.20
Sustancias extractivas no nitrógenadas	3.86	4.12

\* Factor = 6.25 (50).

### 6.2. RESULTADOS EN BASE AL METODO DE EXTRACCION.

El rendimiento de la extracción del Precipitado de Proteína dió 10.54 % \*

\* Factor = 6.25 (50)

### 6.3. ANALISIS BROMATOLOGICO QUE SE LE PRACTICO AL PRECIPITADO DE PROTEINA.

CUADRO 10.

DETERMINACION (%)	BASE HUMEDA	BASE SECA
Humedad	10.90	---
Proteína *	84.20	94.50
Cenizas	1.40	1.57
Fibra cruda	3.30	3.70
Grasa cruda	0	0
Sustancias extractivas no nitrogenadas	0.20	0.23

\* Factor = 6.25 (50)

### 6.4. RESULTADOS DEL RENDIMIENTO EN BASE AL METODO DE EXTRACCION.

Se obtuvo 10.5% de gasta de protefna, según el análisis bromatológico este -  
10.5 contiene 94.5% de protefna por lo que en realidad se tiene:

$$\text{Protefna} = (94.5 \times 10.54) \cdot 100 = 9.97 \text{ \% base seca.}$$

9.97 es el total de proteína que se obtuvo, relacionado con el 11% de proteína teórica se tiene un rendimiento de:

$$R = (9.97 \times 100)/11 = 90.64 \% \text{ base seca.}$$

R = rendimiento.

La diferencia que existe entre los resultados se debió a que el análisis no se llevo a cabo inmediatamente después de la cosecha; también hay que tomar en cuenta otros factores como son: variedad de la planta, época en que se llevo a cabo la cosecha, tipo de clima, suelo, etc.

#### 6.5. ANALISIS BROMATOLOGICO QUE SE LE PRACTICO A LA CASEINA DE REFERENCIA.

CUADRO 11.

DETERMINACION (%)	BASE HUMEDA	BASE SECA
Humedad	10.0	---
Proteína *	89.0	98.89
Cenizas	1.0	1.11
Fibra cruda	0	0
Grasa cruda	0	0
Sustancias extractivas no nitrogenadas	0	0

\* Factor = 6.38 (50)

6.6. ANALISIS BROMATOLOGICO QUE SE LE PRACTICO A LA PASTA ALIMENTICIA FORTIFICADA CON EL PRECIPITADO DE PROTEINA.

CUADRO 12.

DETERMINACION (%)	BASE HUMEDA	BASE SECA
Humedad	10.0	---
Proteína *	20.0	22.22
Cenizas	1.9	2.11
Fibra cruda	2.2	2.44
Grasa cruda	0.5	0.55
Sustancias extractivas no nitrógenadas	65.4	72.68

\* Factor = 6.2% (50).

6.7. ANALISIS BROMATOLOGICO QUE SE LE PRACTICO A LA PASTA ALIMENTICIA SIN FORTIFICAR.

CUADRO 13

DETERMINACION (%)	BASE HUMEDA	BASE SECA
Humedad	6.2	- - -
Proteína *	11.2	11.9
Cenizas	1.3	1.3
Fibra Cruda	1.1.	1.1
Grasa Cruda	2.0	2.1
Sustancias extractivas no nitrógenadas	78.2	83.3

\* Factor = 5.7 por ser un producto de trigo. (50)

Según los resultados anteriores las dietas de este estudio tendrán la siguiente composición, calculadas según las formulas del punto 5.4 Determinación de la Relación de Eficiencia Proteínica (pág. 84).

6.8 DIETAS. (CUADRO 14)

CUADRO 14

D I E T A S	CASEINA	PASTA FORTIFICADA CON PROTEINA	PASTA SIN FORTIFICAR
FACTOR	6.38	6.25	5.70
% N	13.94	3.20	1.96
X	11.47	50.00	81.63
Aceite de semilla de algodón (%)	8.00	7.70	6.30
Mezcla de sales (%)	4.80	4.00	3.90
Mezcla de vitaminas (%)	1.00	1.00	1.00
Celulosa (%)	1.00	0.00	0.10
Agua (%)	3.80	0.50	0.00
Sacarosa o miel de maíz	68.90	36.80	7.10
Calorías (Kcal/g)	387.20	389.50	395.12

6.9 RESULTADOS EN BASE A LA DETERMINACION DE LA RELACION DE EFICIENCIA PROTEINICA (PER).

Los resultados promedio de cada dieta se dan: como sigue:

Dieta de referencia de caseína (cuadro 15).

Dieta de Pasta fortificada con el precipitado de proteína (cuadro 16),

Dieta de pasta sin fortificar (cuadro 17).

CUADRO 15

NECESIDAD DE DATOS PARA LA PRUEBA DE PER.

RATA # <u>PROMEDIO</u> SEXO: <u>MACHO.</u> Peso inicial (Pi) <u>46.9</u> DIETA: <u>CASIM.</u>													
TIEMPO (DIAS)	1	2	4	6	8	10	11	12	13	14	15	TOTAL= 15 días	
PESO ANIMAL	46.9	51.6	57.5	61.2	64.1	67.0	69.0	72.1	75.2	79.9	84.2	Pf =84.2	
INCREMENTO ACUMULATIVO	—	4.7	10.6	14.3	17.2	20.1	22.1	25.1	28.2	32.9	38.5	Pf-Pi= 38.5	
ALIMENTO INICIAL (Ai)	279.4	282.0	273.3	271.7	272.2	270.9	280.6	276.0	278.9	283.4	—		
ALIMENTO FINAL (Af)	288.1	281.8	285.5	284.5	286.7	284.5	281.6	287.2	289.2	283.3	—		
ALIMENTO INGERIDO (AI=Ai-Af)	21.3	20.2	17.8	17.2	16.5	16.4	19.0	16.8	19.7	20.1	—		
ALIMENTO ACUMULATIVO IAI	21.3	41.5	59.3	76.5	93.0	109.4	128.4	147.2	165.9	187.0	—	IAI=187.0	
OBSERVACIONES: <u>Temperatura</u>													

CUADRO 16

REGISTRO DE DATOS PARA LA PRUEBA DE PER.

RATA # <u>PROBIDIO</u> SEXO: <u>MACHO.</u> Peso inicial (Pi) <u>45.9 g.</u> DIETA: <u>PASTA PURIFICADA.</u>													
TIEMPO (DIAS)	1	2	4	6	8	10	11	12	13	14	15	TOTAL= 15 días	
PESO ANIMAL	45.9	50.5	54.8	55.8	57.0	58.2	60.0	62.4	64.6	67.4	70.6	Pf = 70.6	
INCREMENTO ACUMULATIVO	—	3.6	7.9	8.9	10.1	11.3	13.1	15.5	17.7	20.5	23.7	Pf-Pi= 23.7	
ALIMENTO INICIAL (AI)	251.4	278.4	270.9	264.8	269.4	270.0	286.2	274.1	275.1	276.9	—		
ALIMENTO FINAL (AF)	254.7	280.8	261.6	254.2	261.1	260.5	280.5	261.0	264.5	264.7	—		
ALIMENTO INGERIDO (AI-AF)	6.7	17.6	9.3	10.6	8.3	9.5	25.7	13.1	10.6	12.2	—		
ALIMENTO ACUMULATIVO $\Sigma$ AI	6.7	24.3	33.6	44.2	52.5	62.0	87.7	100.8	111.4	123.6	—	$\Sigma$ AI=123.6	
OBSERVACIONES: <u>Tranquila.</u>													



CUADRO 17

REQUISITO DE DATOS PARA LA PRUEBA DE FED.

RATA # <u>PROMEDIO</u> SEXO: <u>MACHO.</u> Peso inicial (Pi) <u>46.9</u> DIETA: <u>PASTA SIN FORTIFICAR.</u>														
TIEMPO (DIAS)	1	2	4	6	8	10	11	12	13	14	15	TOTAL= 15 días		
PESO ANIMAL	46.9	48.7	50.4	52.2	53.7	55.0	57.2	58.6	61.9	61.9	63.3	Pf = 63.3		
INCREMENTO ACUMULATIVO	—	1.8	3.5	5.3	6.8	8.1	10.3	11.7	15.0	15.0	16.4	Pf-Pi= 16.4		
ALIMENTO INICIAL (Ai)	287.4	291.3	278.3	285.4	281.1	288.4	289.1	282.0	283.4	288.8	—			
ALIMENTO FINAL (Af)	271.1	281.0	284.6	273.7	288.2	277.6	272.1	270.5	270.3	274.1	—			
ALIMENTO INGERIDO (AI=Ai-Af)	16.3	10.3	13.7	11.7	12.9	10.8	12.0	11.5	13.1	15.7	—			
ALIMENTO ACUMULATIVO [AI	16.3	26.6	40.3	52.0	64.9	75.7	87.7	99.2	112.3	128.0	—	[AI=128.0		
OBSERVACIONES:														

**6.10. RESULTADOS EN BASE A LA DETERMINACION DE PER.**

**GRUPO 1. DIETA DE REFERENCIA DE CASEINA.**

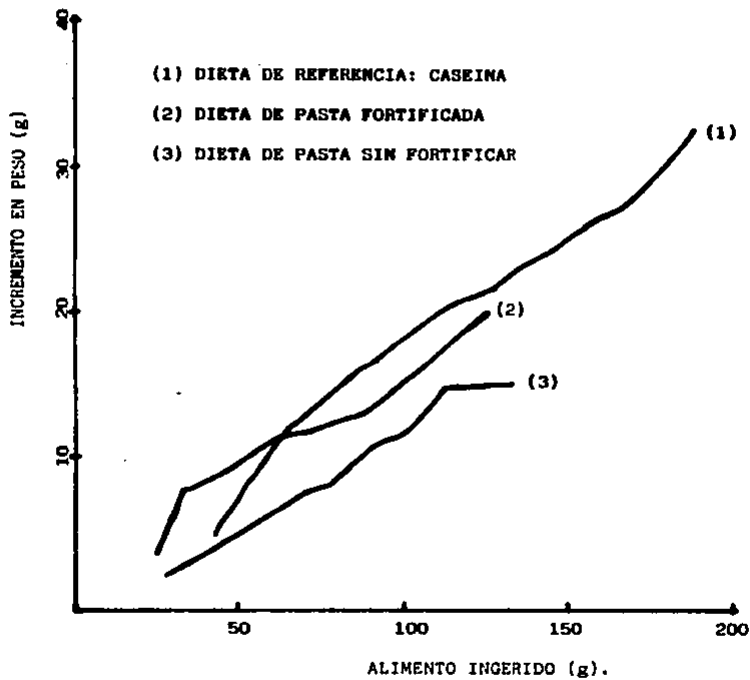
**PROMEDIO =  $2.0 \pm 0 = 0.5397$**

**GRUPO 2 . DIETA DE PASTA FORTIFICADA.**

**PROMEDIO =  $1.9 \pm 0 = 0.3152$**

**GRUPO 3. DIETA DE PASTA SIN FORTIFICAR.**

**PROMEDIO =  $1.1 \pm 0 = 0.2496$**



GRAFICA COMPARATIVA DE PER.

**6.11. PER AJUSTADO.**

PER AJUSTADO = PER exp. x (PER casefna ref./PER casefna exp.)

PER casefna referencia = 2.5 (50)

PER casefna experimental = 2.0

PER pasta fortificada = 1.9

PER pasta sin fortificar = 1.2

PER AJUSTADO DE PASTA FORTIFICADA =  $1.9 \times (2.5/2.0) = 2.38$

PER AJUSTADO DE PASTA SIN FORTIFICAR =  $1.2 \times (2.5/2.0) = 1.50$

**6.12. CALIDAD DE LA PROTEINA.**

$$CP = \text{PER DE LA MUESTRA} \times 100 / \text{PER CASEINA}$$

CP = CALIDAD DE LA PROTEINA.

Según los datos experimentales la calidad de la proteína en la caseína utilizada es de:

$$CP = 2.0 \times 100 / 2.5 = 80 \%$$

La calidad de la proteína en la pasta fortificada es de:

$$CP = 1.9 \times 100 / 2.5 = 76 \%$$

En la pasta sin fortificar:

$$CP = 1.2 \times 100 / 2.5 = 48 \%$$

Si se utiliza el PER ajustado tenemos que:

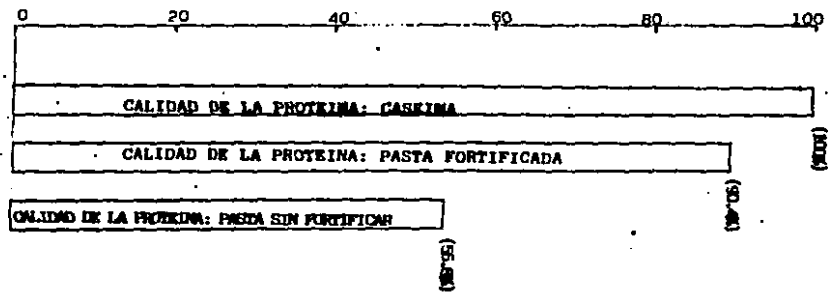
Calidad de la proteína en la pasta fortificada es de:

$$CP = 2.26 \times 100 / 2.5 = 90.4 \%$$

En la pasta sin fortificar:

$$CP = 1.42 \times 100 / 2.5 = 56.8 \%$$

GRAFICA DE LA CALIDAD DE LA PROTEINA.



## CAPITULO 7

### CONCLUSIONES

1. Se puede afirmar que el método de extracción de la proteína es bueno, ya que se obtiene 90.6 % lo cual significa, que aunque se tienen ciertos - problemas técnicos (como el lugar y tiempo de cosecha, transporte, etc), puede llegar a ser costeable industrialmente, ya que no requiere de tecnología sofisticada para llevar a cabo la extracción y su posterior adición a la pasta alimenticia..
2. El análisis bromatológico que se le practico a la pasta de proteína es - de 94.5 %, o sea que en realidad se extrac 9.97 % de Proteína pura del - 11% que se obtiene con los métodos óptimos de laboratorio, por lo que - se confirma que el método de extracción es bueno.
3. Los resultados de la determinación de la Relación de Eficiencia Proteínica (PER) indican que la pasta alimenticia fortificada mejoro su valor nutritivo, aunque se sugiere que se realicen más estudios sobre la digestibilidad de la proteína y su relación óptima con el alimento (pasta alimenticia) para obtener el máximo valor nutritivo posible.
4. La determinación de la calidad de la proteína demuestra que la pasta fortificada tiene una mejor calidad en relación a la pasta no fortificada, -

por lo que se puede afirmar que la proteína tiene un balance medio de - aminoácidos.

5. El problema grave con los alcalifis en el momento de la extracción es la - posibilidad de formación de nuevos aminoácidos o la racemización, por lo que se debe tener mucho cuidado en esta parte de la extracción para evitar que se presenten dichos problemas.
  
6. Las reacciones químicas que suceden con las proteínas pueden traer consigo problemas secundarios, ya que en algunos casos los productos obtenidos pueden ser tóxicos, por lo tanto, se deben continuar los estudios para determinar los efectos biológicos de la proteína modificada sobre el humano antes de usarla comercialmente.



C A P I T U L O 8

B I B L I O G R A F I A

1. Asquit, R.S. Carthew, P. An Investigation of the Mechanism of Alkaline Degradation of Cysteine in Intact Protein. *Biochem. Biophys. Acta* **278**, **8**, 1972.
2. Beveridge, T. et al. Determination of SH and S-S Groups in Some Food Proteins Using Ellman's Reagent. *J. Food Sci.* **39**, 49, 1974.
3. Bjarnson, J. Carpenter, K.J. Mechanism of Heat Damage in Proteins. *Brit. J. Nutr.* **24**, 313, 1970.
4. Bohak, Z. N-(DL-2 amino-2-carboxyethyl)-L-lysine. A new Amino Acid Formed on Alkaline Treatment of Proteins. *J. Biol. Chem.* **239**, 2878, 1974.
5. Butler, L. Protein Structure and Properties. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **48**, 101, 1971.
6. Cante, C.J. et al. Proteins and Emulsifiers: Methods for Assessing the Role. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **56**, 71A, 1979.
7. Campell, J.A. *The Pag Compendium Vol. D* John Wiley & Sons. D649-D723, 1975.

8. Chapman, D. Physical Studies of Lipid-Lipid and Lipid-Protein Interactions. *Lipids*. 4 (4), 251, 1969.
9. Chou, D.H. Morr, C.V. Protein-Water Interactions and Functional Properties. *J. Am Oil Chem. Soc.* 56, 53A, 1979.
10. Circle, S.J. Smith, A.K. Processing Soy Flours. Protein Concentrates and Protein Isolates. Soybeans: Chemistry and Technology. The Avi Publish. Wesport, Conn. 1, 1972.
11. Como Hacer Mejor El Cultivo de Jitomate. Sep. Año I, Vol. II No. 19.
12. Del Valle, F.R. Pérez Villaseñor, J. Enrichment of Tortillas with Soy Proteins by Lime Cooking of Whole Raw Corn-Soybean Mixtures. *J. Food Sci.* 39, 244, 1974.
13. Dickerson, R.E. and Geis, I. The Structure and Action of Proteins. Harper and Row Publish. N.Y. 1969.
14. Drieger, A. Hatfield, E.E. Influence of Tannins on the Nutritive Value of Soybean Meal for Ruminants. *J. anim. Sci.* 34, 365, 1972.
15. Ferry, J.D. Proteins Gels. *Protein Chem.* 4,1, 1948.
16. Food and Agriculture Organization. The State of Food and Agriculture. FAO of the U.N. Rome, Italy, 1965.

17. Fox, B.A. Cameron, A.G. Food Science. A Chemical Approach. Hodder and Stoughton. London. 1976.
18. Fujimaki, M. et al. Studies on Roasting Changes of Proteins. Part I. Changes of Casein and Lysozyme During Roasting, Agr. Biol. Chem. 36, 416, 1972.
19. Fukushima, D. Denaturation of Soybean Proteins by Organic Solvents, Cercal Chem. 46, 156, 1969.
20. Gross, E. Chemistry and Biology of Amino Acids Food Proteins: Lysine-Alanine. Adv. Chem. Ser. 160, 37, 1977.
21. Gulik, K.T. et al. Interaction of Proteins and Lipids: Structure and Polimorphism of Protein-Lipid-Water Phases. Nature. 223, 1116, 1969.
22. Hagemaiier, R. et al. Dehydrated Coconut Skim Milk as a Food Products: Composition and Functionality. J. Food Sci. 39, 196, 1974.
23. Hansen, P.M.T. et al. Reclamation of Whey Protein with Carboxymethylcellulose. J. Dairy Sci. 54, 830, 1971.
24. Harrington, W.F. Von Hippel, P.H. The Structure of Collagen and Gelatin. Protein Chem. 16, 1, 1961.

25. Hart, M.R. et al. Lyc Peeling of Tomatoes Using Rotating Rubber Disc. Food Technol. 28 (12), 38, 1974.
26. Hayase, F. et al. Racemization of Amino Acid Residues in Proteins and Poly(L-amino acids) During Roasting. J. Agr. Food Chem. 23, 491, 1975.
27. Hidalgo, J. Hansen, P.M.T. Selective Precipitation of Whey Proteins with Carboxymethylcellulose. J. Dairy Sci. 54, 1270, 1971.
28. Hodge, J.E. Dehydrated Foods. Chemistry of Browning Reactions in Model Systems. J. Agr. Food Chem. 1 (15), 928, 1953.
29. Hood, L.F. et al. Microstructure of Modified Tapioca Starch-Milk Gels. J. Food Sci. 39, 117, 1974.
30. Huang, F.F. and Rha, C. Protein Structure and Protein Fibers. A review. Polymer Eng. Sci. 14 (2), 81, 1974.
31. Hurrell, R.F. Carpenter, K.J. Nutritional Significance of Cross-Link Formation During Food Processing. Adv. Exp. Med. Biol. 668, 225, 1977.
32. Hurte, H.D. Forsythe, R.H. Krieger, C.M. In: Protein Nutritional Quality of Food and Feeds. Frieman (1), 87-112 (1975).
33. Inglett, G.E. Food Proteins from Unconventional Cereals. Food Technol. 31 (5), 180, 1977.

34. Jacobson, S.J. et al. Mechanism of Cystine Racemization in Strong Acid. *J. Org. Chem.* **39**, 1074, 1974.
35. Johnson, D.W. Functional Properties of oilseed Proteins. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **47**, 402, 1970.
36. Jonas, J.J. Impact of Vegetable Proteins on Dairy Products. *J. Milk Food Technol.* **38** (1), 39, 1975.
37. Jones, R.T. The Structure of Proteins. Symposium on Food: Proteins and Their Reactions. The Avi Publish. Westport, Conn. 1964.
38. Kinsella, J.E. Functional Properties of Protein in Food. A survey, *Critical Rev. Food Sci. Nutr.* **219**, 1976.
39. Kohler, G.O. Knuckles, B.E. Edible Protein from Leaves. *Food Technol.* **31** (5), 191, 1977.
40. Konjin, A.M. et al. Further Purification and Mode of Action of a Goitrogenic Material from Soybean Flour, *J. Nutr.* **103**, 378, 1973.
41. Kuntz, I.D. Hydration of Macromolecules. III. Hydration of Polypeptides. *J. Am. Chem. Soc.* **93**, 514, 1971.
42. Kuninori, T. Sullivan, B. Disulfide-Sulfhydryl Interchange Studies of Wheat Flour. 2. Reaction of Glutathione. *Cereal Chem.* **45**, 486, 1968.

43. Lehninger, A.L. BIOCHEMISTRY. Worth Publish. N.Y. 1975.
44. Liener, I.E. Nutritional Aspects of Soy Protein Products. J. Am. Oil Chem. Soc. 54, 454A, 1977.
45. Litchfield, J.H. Single-Cell Proteins, Food Technol. 31 (5), 175, 1977.
46. Mcweeney, D.J. Burton, H. Some Possible Glucose-Glycine Browning Intermediates and Their Reactions with Sulfitcs. J. Sci. Food Agr. 14, 291, 1963.
47. Miller, G.A. Lachance, P.A. Proteins: Chemistry and Nutrition. Food Prod. Devel. 7 (12), 23, 1973.
48. Molina, M.R. et al. Nonconventional Legume Grains as Protein Sources. Food Technol. 31 (5), 188, 1977.
49. Nash, A.M. et al. Denaturation of Soybean Proteins by Isoelectric Precipitation. Cereal Chem. 48, 360, 1971.
50. OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS. Association of Official Analytical Chemists. 14ed. 1984.
51. Osman, E.M. Starch: Chemistry and Technology. Academic Press. 2, 1967.

52. Parrish, G.K. et al. The Prospects of Leaf Protein as a Human Food and a Close Look at Alfalfa. T.E. Furia (ed.). CRC Press, Cleveland. 1974.
53. Pawley, W.H. Possibilities of Increasing World Food Production. FAO of the U.N. Rome, Italy. Study 10.
54. Peterson, R.F. Testing for Purity in Proteins by Gel Electrophoresis. J. Agr. Food Chem. 39, 1074, 1974.
55. Rackis, J.J. Biologically Active Components. Smith, A.K. and Circle, S.J. (Eds.). Soybeans: Chemistry and Technol. Vol. 1 Proteins. The Avi Publish. Westport, Conn. 1972.
56. Sawyer, W.H. Complex Between B-Lactoglobulin and k-Casein. A review. J. Dairy Sci. 52, 1347, 1969.
57. Screenivasanmurthy, V. Detoxification of Aflotoxin in Peanut Meal. J. Assoc. Offic. Agr. Chem. 50, 350, 1967.
58. Smith, A.K. Circle, S.J. Peptization of Soybean Proteins. Extraction of Nitrogenous Constituents from Oil-Free Meal by Acids and Bases with and without Added Salts. Ind. Eng. Chem. 30, 1414, 1938.
59. Soy Fibers. A new Approach to Vegetable Protein Acceptability. Nutr. Rev. 25, 305, 1967.

60. Spinelli, J. et al. Expanded Uses for Fish protein From Underutilized Species. Food Technol. 31 (5), 184, 1977.
61. Tiemstra, P.J. Degradation of Gelatin. Food Technol. 22, 1151, 1968.
62. Tiscornia, J. Hortalizas de Fruto. Ed. Albatros. Argentina. 7-67, 1976.
63. Turakhozhaev, M.T. et al. Extraction of Protein from Tomato Leaves Seed Grist. Khim Prir Soedim (Tashk). O (6), 829-831, 1979.
64. U.S. PHARMACOPEIA NATIONAL FORMULARY. USP XX. 902, 1980.
65. Wall, J.S. Disulphide Bonds: Determination, Location and Influence on Molecular Properties of Proteins. J. Agr. Food Chem. 19, 619, 1971.
66. Weber, C.W. et al. Citrullis, Opondantera, Curcubita and Hibicus Seed Protein. Food Technol. 31 (5), 182, 1977.
67. Whitaker, J.R. Principles of Enzymology for Food Sci. Marcel Dekker. N.Y. 1972.
68. Wolf, W.J. Physical and Chemical Properties of Soybean Proteins. J. Am. Oil Chem. Soc. 54, 112A, 1977.
69. Wolf, W.J. et al. Denaturation of Soybean Globulins by Aqueous Isopropanos. Cereal Chem. 41, 328, 1964.



70. Wolf, W.J. Tamura, T. Heat Denaturation of Soybean 11S Protein. Cereal Chem. 46, 331, 1969.
71. Wolford, K.M. Beef/Soy; Consumer Acceptance. J. Am. Oil Chem. Soc. 51, 131A, 1974.
72. Woodard, J.C. Short, D.D. Toxicity of Alkali-Treated Soy Proteins in Rats. J. Nutr. 103, 569. 1973.