

56
24
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO.

FACULTAD DE CIENCIAS.

" LAS LEGUMINOSAS COMO FUENTE ALTERNATIVA DE TAURINA EN LA DIETA "

TESIS QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE BIÓLOGO
PRESENTA:

R I T A F L O R E S L E O N

ENERO DE 1991.

FALLA DE ORIGEN



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

INDICE

INTRODUCCION.

GENERALIDADES ACERCA DE LA TAURINA.....	1
BIOSÍNTESIS DE LA TAURINA.....	2
POSIBLES FUNCIONES DE LA TAURINA.....	4
ACCIONES FARMACOLÓGICAS DE LA TAURINA.....	5
CONSECUENCIAS DE LA DEFICIENCIA EN TAURINA.	
A) ALTERACIONES EN LA RETINA.....	6
B) ALTERACIONES EN EL CEREBRO.....	9
C) ALTERACIONES EN LA REPRODUCCIÓN	
Y EL CRECIMIENTO.....	10
ALIMENTOS COMO FUENTE DE TAURINA.	
A) ALIMENTOS DE ORIGEN ANIMAL.....	11
B) ALIMENTOS DE ORIGEN VEGETAL.....	13

MATERIAL Y METODOS.

I.- PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS.....	16
II.- ANÁLISIS CUANTITATIVO.....	17
A) EXTRACCIÓN DE AMINOACIDOS SOLUBLES.....	17
B) DESLIPIDIZACIÓN..	18
C) CROMATOGRAFÍA EN COLUMNA DE	
INTERCAMBIO CATIONICO.....	18

D) CUANTIFICACIÓN DE TAURINA.....	19
E) CROMATOGRAFÍA LIQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN (HPLC).....	19

RESULTADOS.

I.- MODIFICACIONES A LA TÉCNICA.

A) EXTRACCIÓN DE AMINOÁCIDOS LIBRES.....	20
B) DESLIPIDIZACIÓN.....	21
C) CROMATOGRAFÍA EN COLUMNA DE INTERCAMBIO CATIONICO.....	22
D) CUANTIFICACIÓN DE TAURINA.....	24
E) CROMATOGRAFÍA LIQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN (HPLC).....	25

II.- CONTENIDO DE TAURINA

EN SEMILLAS DE LEGUMINOSAS.....	26
---------------------------------	----

III.- EFECTO DEL REMOJO Y LA COCCIÓN

SOBRE EL CONTENIDO DE TAURINA.....	28
------------------------------------	----

DISCUSIÓN.....	29
----------------	----

REFERENCIAS.....	39
------------------	----

INTRODUCCION

GENERALIDADES ACERCA DE LA TAURINA.

La taurina es un aminoácido azufrado (2-amino etano sulfónico, $C_2H_7NO_3S$), constituyente universal de los tejidos animales: fue descrito por primera vez en la bilis del toro en 1827 (Tiedman y Gmelin, 1827) y posteriormente identificado en tejidos de diversos organismos en la escala zoológica, incluyendo protozoarios, poríferos, braquiópodos, sipunculidos, anélidos, artrópodos, equinodermos y moluscos, siendo este último el grupo que presenta las concentraciones más elevadas del aminoácido (Jacobsen y Smith, 1968). A pesar de que la taurina no forma parte estructural de las proteínas y no interviene en el metabolismo de ningún tejido, exceptuando el hígado, sus concentraciones pueden ser muy elevadas. Se encuentra en un rango de 10 a 100 mM, presentando los niveles más altos en el hígado, el riñón, el bazo y principalmente en los tejidos muscular, nervioso y las glándulas de secreción. Este aminoácido se encuentra esencialmente en la fracción soluble de las células. Las concentraciones de taurina varían dependiendo de la especie, de la edad y de la etapa de desarrollo (Jacobsen y Smith, 1968; Crabal *et al.*, 1979; Kocsis *et al.*, 1976). En los tejidos las concentraciones de taurina se mantienen notablemente constantes como resultado del equilibrio entre los procesos de biosíntesis, acumulación y excreción (Sturman, 1973).

BIOSINTESIS DE LA TAURINA.

La mayor parte de las especies animales tienen la capacidad de sintetizar taurina a partir de precursores endógenos (como la cisteína), pero algunas especies como el gato y los primates, incluyendo al hombre, presentan una capacidad de síntesis limitada por lo que dependen en gran parte del aporte exógeno de taurina para mantener sus pozas tisulares (Jacobsen y Smith, 1968).

En lo que se refiere a la capacidad de síntesis aun en una misma especie, existen diferencias entre los distintos tejidos; en el hígado, la síntesis se lleva a cabo activamente, mientras que tejidos como el músculo y el corazón dependen principalmente de la taurina sintetizada en otros órganos, muy probablemente en el hígado desde el cual se transporta y circula por el plasma a bajas concentraciones. Estos tejidos con baja actividad biosintética presentan una gran capacidad de acumulación mediante procesos activos de transporte muy específicos y de alta afinidad. En tejidos como el nervioso se combinan la síntesis in situ y la acumulación, operando ambos mecanismos en forma complementaria dependiendo de las necesidades particulares y la disponibilidad del aminoácido.

Los detalles del proceso de biosíntesis de la taurina a partir de precursores endógenos, pueden variar en los distintos tejidos y en las distintas especies. La capacidad de síntesis varía de órgano a órgano en una especie dada, varía en un mismo

órgano de especie a especie y se ha descrito también una variación dependiendo del grado de desarrollo.

Se han descrito algunas vías por medio de las cuales es posible su formación a través de procesos enzimáticos asociados al metabolismo de los aminoácidos azufrados. En particular, el precursor directo es la cisteína, obtenida ya sea de la dieta o a partir de la conversión de la metionina (Jacobsen y Smith, 1968; Awapara, 1976). Existen varias vías posibles de síntesis para la obtención de taurina a partir de cisteína. Aunque los primeros estudios indican que la ruta dominante varía entre especies y entre tejidos (Jacobsen y Smith, 1968; Wright *et al.*, 1986), parece ser que la vía principal para la formación de taurina en los tejidos de los mamíferos es aquella en la que se lleva a cabo la oxidación de la cisteína para formar el ácido cisteín sulfínico, el cual por descarboxilación se transforma en hipotaurina; la cual mediante una oxidación da lugar a la taurina (Chatagner y Bergeret, 1952). La vía alterna es la que a partir del intermediario ácido cisteín sulfínico se forma el ácido cistéico por oxidación, el cual posteriormente por descarboxilación origina la taurina (Jacobsen *et al.*, 1964; Salceda *et al.*, 1979) (Fig.1). En estas dos vías metabólicas, las enzimas implicadas han sido identificadas y localizadas en diferentes tejidos de vertebrados. Así, por ejemplo, la deshidrogenasa de la hipotaurina se ha encontrado en hígado, riñón y músculo de la rata y la descarboxilasa del ácido cisteín sulfínico (DACS) se encuentra principalmente en el hígado, riñón

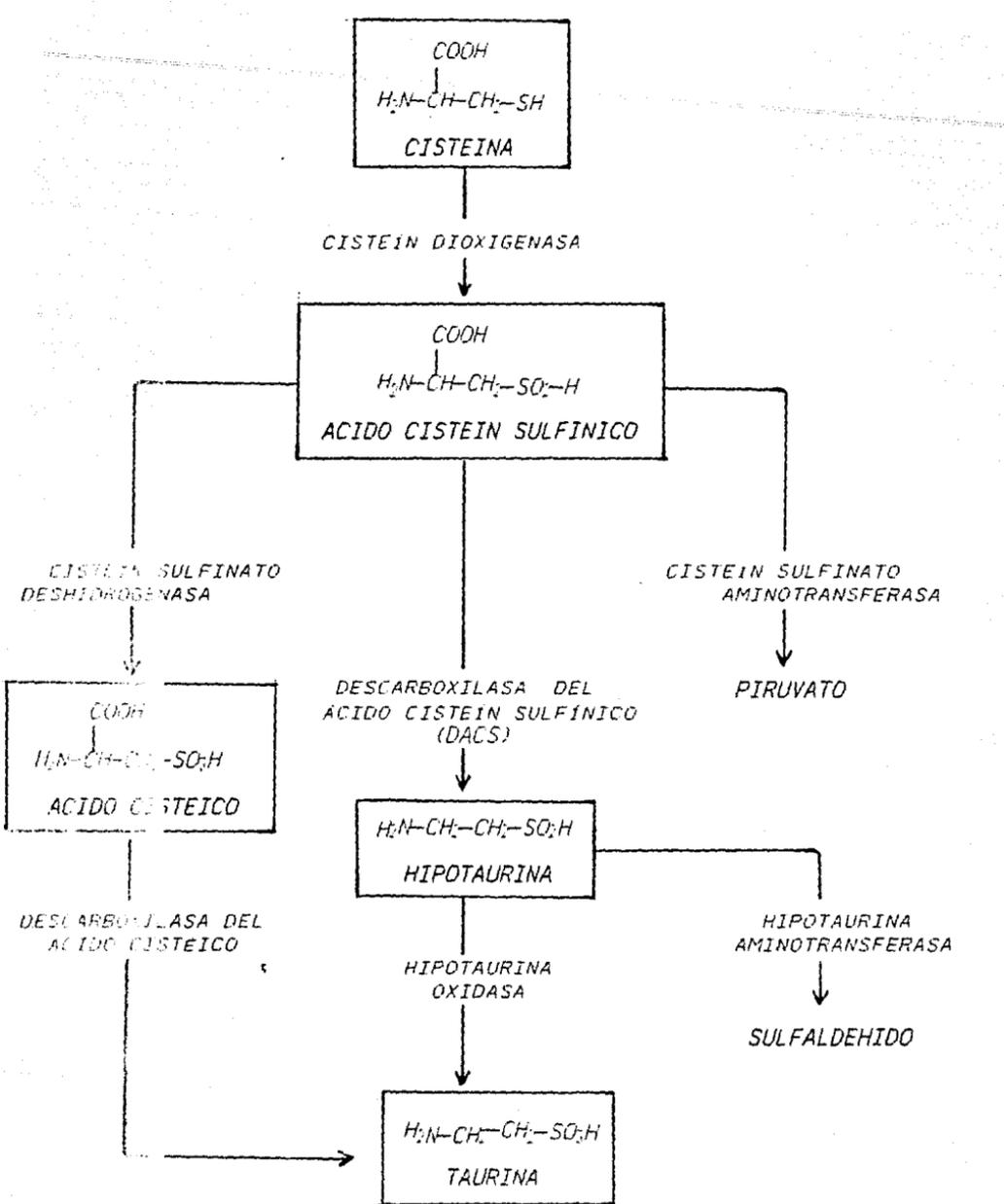


FIG. 1. SINTESIS DE LA TAURINA.

(PASANTES-MORALES, 1988)

TABLA I.- ACTIVIDAD DE LA DACS EN TEJIDOS DE ALGUNOS MAMIFEROS.

Especie	Tejido	Adulto (nmol CO ₂ /mg de proteina/hra)	Feto
Hombre	Hígado	0.3	0.3
	Cerebro	4.8	N.D.
Mono <u>Rhesus</u>	Hígado	5.0	3.5
	Cerebro	4.8	trazas
Rata	Hígado	468.0	8.8
	Cerebro	63.0	1.4
Gato	Hígado	4.5	7.1
	Cerebro	59.0	6.1
Conejo	Hígado	14.3	16.4
	Cerebro	25.0	8.3
Cobayo	Hígado	3.0	1.7
	Cerebro	5.6	4.2

En hígado y en cerebro de fetos la biosíntesis de taurina es limitada por la actividad extremadamente baja o ausente de la DACS. (Sturman y Hayes, 1980).

y cerebro de varias especies. (Jacobsen et al., 1964; Jacobsen y Smith, 1968; Hayes y Sturman, 1981). En hígado y cerebro de fetos y recién nacidos, tanto en monos como en humanos, la biosíntesis de taurina está limitada por la actividad extremadamente baja o ausente de la DACS, lo mismo sucede en el hígado de la rata. Los estudios realizados sobre la vía de síntesis de taurina indican que durante los primeros estadios de desarrollo se produce menor cantidad del aminoácido que durante la etapa adulta y que los fetos y los animales jóvenes son dependientes de sus madres para un adecuado suplemento de taurina. Los estudios realizados en otras especies enfatizan la baja actividad de la DACS en el sistema nervioso de los mamíferos en desarrollo (Sturman y Hayes, 1980) (TABLA I).

POSIBLES FUNCIONES DE LA TAURINA.

A pesar de su amplia distribución y sus elevadas concentraciones, hasta ahora no se han identificado con claridad la función o funciones de la taurina en la fisiología celular de los diferentes tejidos en los que se localiza. La única reacción metabólica bien caracterizada es su conjugación con ácidos biliares en el hígado para formar los ácidos taurocólico y taurodeoxicólico. (Spaeth y Schneider, 1974; Brueton et al., 1978; Hayes y Sturman, 1981).

Con base en las observaciones hechas sobre el efecto protector de la taurina en distintos tipos celulares, se ha postulado que este aminoácido podría jugar un papel muy

importante en la estabilización estructural de las membranas (Huxtable y Bressler, 1973; Gauli et al., 1985).

En otros estudios se ha demostrado que la taurina está involucrada en los mecanismos de regulación del volumen celular en tejidos de vertebrados eurihalinos y marinos (Florkin et al., 1965; Gilles, 1979; Vislie, 1983). Otras investigaciones han aportado evidencias de que la taurina podría intervenir como osmoelector en la fisiología del músculo esquelético y del tejido nervioso de mamíferos (Thurston et al., 1981; Wade et al., 1982; Solís et al., 1988).

ACCIONES FARMACOLÓGICAS.

La taurina presenta una amplia variedad de acciones farmacológicas. Se ha visto que este aminoácido ofrece un efecto notablemente protector contra las alteraciones de la excitación nerviosa; el tratamiento con taurina es efectivo contra las crisis convulsivas en una extensa variedad de modelos experimentales, así como en algunas formas de epilepsia en el hombre (Sbabaro, 1974; Pasantes-Morales et al., 1981), también se ha descrito una acción analgésica y una participación en el control central de la temperatura corporal (Lipton y Ticker, 1979). En el sistema cardiovascular se ha demostrado que regulariza el ritmo cardíaco en arritmias provocadas experimentalmente (Read y Welty, 1963; Welty y Read, 1964). Por otra parte se ha reportado que en individuos con insuficiencia

cardíaca congestiva los niveles de taurina en el corazón son muy elevados (Huxtable y Bressler, 1974), al igual que en músculo esquelético en casos de distrofias congénitas (Baskin y Dagimanjian, 1973). Lo que no es claro, sin embargo, es si toda esta variedad de efectos está mediada a través de un mecanismo común del aminoácido o si corresponde a acciones diferentes.

CONSECUENCIAS DE LA DEFICIENCIA EN TAURINA.

Como se mencionó anteriormente, las pozas tisulares de taurina presentan una gran estabilidad; esto con frecuencia ha hecho difícil la investigación acerca de las consecuencias que podría provocar la deficiencia del aminoácido sobre el funcionamiento de órganos y tejidos en los que se encuentra. Sólo en algunos protocolos experimentales ha resultado exitosa la reducción de los niveles de taurina en los tejidos. Sin embargo, es importante señalar que ninguno de los métodos utilizados permite agotar completamente las pozas del aminoácido, probablemente debido a la persistencia de los mecanismos de biosíntesis.

a) Alteraciones en la retina.

Los primeros estudios sobre las alteraciones asociadas a una deficiencia en taurina se llevaron a cabo en el gato (Hayes, et al 1975a), aprovechando su limitada capacidad para la síntesis de este compuesto y su dependencia casi total del aporte exógeno a través de la dieta. Así, al someter a gatos a una dieta libre de

taurina, se obtuvo una disminución progresiva de los niveles tisulares de este aminoácido. Después de un período prolongado de alimentación en estas condiciones, se manifestaron alteraciones en el electroretinograma (ERG) y una severa perturbación en la estructura de los fotorreceptores; a nivel ultraestructural los cambios se caracterizan por vesiculación, desorientación y desintegración de las células fotorreceptoras de los segmentos externos. Al avanzar el tratamiento ocurrió la muerte de las células fotorreceptoras y la pérdida irreversible de la capacidad visual (Hayes et al., 1975a; Hayes et al. 1975b; Berson et al., 1976; Schmidt et al., 1977). El proceso deteriorativo causado por la deficiencia en taurina es irreversible en sus etapas avanzadas; sin embargo, la inclusión de este compuesto en la dieta, antes de que la disminución en los niveles de taurina en la retina rebase un nivel crítico, previene la aparición de las alteraciones visuales y cuando los procesos de degeneración no están muy avanzados, la presencia del aminoácido puede revertirlos. (Berson et al., 1976).

En el mono, al sustituir la alimentación materna por fórmulas lácteas carentes de taurina, también se produjo una alteración en los fotorreceptores, principalmente en los segmentos externos de los conos (Sturman et al., 1984; Neuringer et al., 1985), traduciéndose esto en pérdida de la agudeza visual.

Las alteraciones en la función de la retina como consecuencia de los bajos niveles de taurina, también se han manifestado en el

hombre. En pacientes sometidos a una nutrición parenteral carente de taurina durante más de seis meses, se detectaron bajas concentraciones de taurina en el plasma, acompañadas por anomalías electroretinográficas, alteración en el período de adaptación a la oscuridad y cambios oftalmoscópicamente visibles, incluyendo ligeras manchas en la retina. Al incluir taurina en la dieta, las concentraciones del aminoácido en el plasma se normalizaron y los cambios en la retina fueron revertidos en algunos pacientes (Ament et al, 1986; Geggel et al, 1982 y 1985; Rigo y Santerre, 1977; Vinton et al, 1985, 1986 y 1987).

Por otra parte, en especies como la rata que son capaces de sintetizar taurina, el procedimiento experimental para disminuir los niveles tisulares del aminoácido es el de utilizar análogos estructurales que inhiben el transporte. El derivado guanidinoetano sulfonato (GES) ha sido empleado con éxito para reducir los niveles de taurina. Las ratas sometidas a un tratamiento con GES, normalmente adicionado al agua a concentraciones de 1%, presentan una drástica disminución de los niveles del aminoácido en la retina, produciéndose alteraciones electroretinográficas y morfológicas, semejantes a las encontradas en el gato (Lake, 1982; Pasantes-Morales, et al, 1983).

Además de los cambios observados en la retina, la deficiencia de taurina en el gato origina una degeneración en el tapetum lucidum, una importante capa de células que se encuentra localizada detrás de los fotorreceptores y que ayuda a estos a aumentar su sensibilidad. Los procesos degenerativos aparecen con

la desorganización de las membranas que rodean los bastones, causada por la disminución en los niveles de taurina y la concurrente pérdida de zinc de estas membranas (Wen et al., 1979; Sturman et al., 1979).

A partir de estas observaciones se ha establecido que es de gran importancia mantener los niveles fisiológicos de taurina en la retina para asegurar su integridad, tanto morfológica como funcional.

b) Alteraciones en el cerebro.

Se sabe que la taurina es después del ácido glutámico, el aminoácido libre más abundante en el cerebro de muchas especies. Su concentración es considerablemente más elevada durante el desarrollo, ya que se han encontrado niveles 3 ó 4 veces mayores que en el cerebro adulto (Sturman y Hayes, 1980).

Las consecuencias de una deficiencia de taurina sobre el desarrollo del cerebro se conocen a través de los estudios realizados por Sturman en gatos (Sturman et al., 1985a y 1985b). En estos trabajos se observó que la concentración de taurina en la leche de las hembras alimentadas con dietas libres del aminoácido es sólo un 10% de la que se encuentra normalmente. La deficiencia en taurina produjo una alteración severa durante los períodos críticos del desarrollo normal del cerebro. A nivel de la corteza visual se observó una incapacidad para llevar a cabo

adecuadamente la migración celular, dando lugar a un retraso en la organización de los estratos neuronales. Las consecuencias de la deficiencia también se observan en los procesos de migración de las células granulares del cerebelo, provocando así una alteración en la organización laminar de las células de la corteza cerebelar.

Las crías de estos animales deficientes en taurina presentaron al nacer un menor peso corporal y una disminución en el tamaño del cerebro; la curva de crecimiento de éstos mostró un claro retraso con respecto a los gatos nacidos y alimentados por madres suplementadas con este compuesto.

En los monos alimentados con fórmulas lácteas carentes de taurina, se ha observado un retraso en la organización de las células de la corteza cerebral, de manera semejante a lo observado en el gato, mientras que en los monos alimentados con fórmulas suplementadas con taurina no hubo alteración alguna (Sturman et al., 1984; Neuringer et al., 1987; Neuringer y Sturman, 1987; Imaki et al., 1987; Sturman et al., 1988).

c) Alteraciones en la reproducción y el crecimiento.

Durante los experimentos con gatos (Sturman et al., 1985a), se pudo detectar que la condición de las madres alimentadas con dieta libre de taurina, trae como consecuencia anomalías en el proceso reproductivo, incluyendo una mayor dificultad para la fecundación de las hembras, un alto índice de abortos y

reabsorción de fetos, así como un número menor de productos a término.

ALIMENTOS COMO FUENTE DE TAURINA.

Por los estudios mencionados anteriormente, se sabe que el aporte exógeno de taurina en las especies como el gato y los primates (especies con una baja capacidad de síntesis) es el más importante para el mantenimiento de las pozas tisulares del aminoácido, por lo que es de interés conocer las fuentes exógenas de aprovisionamiento de taurina.

a) Alimentos de origen animal.

En los estudios hechos por Roe y Weston (1965), Jacobsen y Smith (1968), Montenegro (1987) y Pasantés-Morales et al (1989), se encontraron concentraciones altas de taurina en tejido muscular de diferentes especies, haciendo evidente que la carne es la principal fuente dietaria de este aminoácido. Al analizar con detalle los niveles de taurina en diferentes tipos de carne se encontró que los moluscos presentan concentraciones particularmente elevadas de taurina; el pescado en general también contiene cantidades altas (alrededor de 10 $\mu\text{mol/g}$). En la carne de res, de cerdo y de ovinos, los niveles de taurina se encuentran en un rango de 2 a 6 $\mu\text{mol/g}$; la carne de aves, especialmente la de pollo, presenta diferencias sustanciales dependiendo del tipo de músculo; se ha observado que las

TABLA II.- CONTENIDO DE TAURINA EN ALIMENTOS DE ORIGEN ANIMAL.

ALIMENTO	CONCENTRACION DE TAURINA umolas/g peso fresco.
CARNE:	
Res	3.7 ± 0.37 (4)
Cerdo	4.0 ± 0.3 (4)
Pollo (pechuga)	1.4 ± 0.03 (4)
Pollo (pierna)	6.6 ± 0.37 (4)
Cordero	3.5 ± 0.33 (5)
PESCADO	9.1 ± 1.04 (6)
MARISCOS:	
Almeja	41.4 ± 4.0 (6)
Pulpo	31.2 ± 1.0 (4)
Camarón	12.4 ± 0.3 (6)
Ostión	2.3 ± 0.2 (6)

Resultados expresados en promedio ± el Error Estandar. Entre paréntesis se indica el número de determinaciones. (Pasantes-Morales et al., 1989).

concentraciones de taurina son considerablemente distintas entre los músculos rápidos y los lentos; los músculos rápidos como los de la pierna y muslo, presentan cantidades semejantes a las encontradas en carne de cerdo o de res, alrededor de 6 $\mu\text{mol/g}$, mientras que los músculos lentos, como los pectorales, contienen una concentración menor, de 1 a 2 $\mu\text{mol/g}$ (Montenegro, 1987; Pasantes-Morales et al, 1989) (TABLA II).

No sólo el tejido muscular contiene cantidades considerables de taurina, sino también algunos órganos, tales como el corazón, el hígado y el riñón, los cuales son de uso común en la dieta de la población mexicana.

Por otra parte, la leche de una gran variedad de especies estudiadas presenta niveles altos de taurina (Rassin et al, 1978) aunque existen diferencias entre cada especie (TABLA III). Se ha observado que en algunas especies como la rata, el chimpancé y el hombre los niveles más altos de taurina se encuentran durante la lactancia (Rassin et al, 1978; Gaul1, 1982), sin embargo este decremento no es mayor al 60% en todos los casos estudiados, mientras que en la leche de vaca se observa una drástica disminución (Gaul1, 1982), lo cual reviste gran importancia ya que la leche de vaca es utilizada como materia prima de la mayoría de las leches de fórmula, lo cual explica las bajas concentraciones de taurina encontradas, tanto en plasma como en orina, en los niños alimentados con fórmulas lácteas. Estas concentraciones son mucho menores que las encontradas en niños alimentados con leche humana. Al adicionar taurina a las fórmulas

TABLA III.- CONCENTRACION DE TAURINA EN LA LECHE.

ESPECIE	Menos de 5 días después del parto	Más de 5 días después del parto
	$\mu\text{mol de taurina} / 100 \text{ ml}$	
Perro	264 \pm 114 (3)	191 \pm 73 (3)
Chimpancé	71 (1)	26 \pm 1 (3)
Oveja	68 \pm 10 (3)	14 \pm 3 (3)
Rata	63 \pm 8 (6)	15 \pm 12 (7)
Mono <u>Rhesus</u>	61 \pm 6 (9)	56 \pm 5 (5)
Hombre	41 \pm 7 (13)	34 \pm 3 (28)
Vaca	31 \pm 5 (7)	1 \pm 0.3 (6)
Gerbil	--	595 \pm 152 (5)
Gato	--	287 \pm 33 (2)
Ratón	--	75 \pm 20 (6)
Babuino	--	38 \pm 5 (13)
Cuyo	--	17 \pm 3 (3)
Mono de Java	--	14 (1)
Conejo	--	14 \pm 3 (7)
Caballo	--	3 \pm 0.4 (9)

-- No determinado.

Los datos se expresan como el promedio \pm el Error Estandar. Entre paréntesis se indica el número de determinaciones. (Rassin et al, 1978).

en concentraciones iguales a las encontradas en la leche humana, se ha observado que los niños alimentados con éstas presentan concentraciones similares a las encontradas en niños alimentados con leche humana (Järvenpää et al., 1983; Rassin et al., 1983).

Los resultados de los estudios mencionados anteriormente, llevaron a la adición de taurina en fórmulas lácteas para humanos en Estados Unidos, Japón, Canadá y en algunos países de Europa (Tyson et al., 1989). Recientemente se observó que los niños alimentados con fórmulas lácteas suplementadas con taurina, presentan respuestas a estímulos auditivos de una manera más madura y una reducción, aunque pequeña, en el intervalo estímulo respuesta con respecto a los niños alimentados con fórmulas no suplementadas (Sturman, 1990).

Montenegro (1987), llevó a cabo un estudio sobre el contenido de taurina en alimentos, el cual mostró la ausencia de este aminoácido en productos lácteos como el queso y el yogurth, así también como en otros productos de origen animal incluyendo el huevo y la miel de abeja.

b) Alimentos de origen vegetal.

En la actualidad existen pocos estudios sobre el contenido de taurina en los vegetales y son notablemente escasos los que tienen un enfoque nutricional; los análisis realizados hasta ahora son principalmente en vegetales no comestibles.

El contenido de taurina se ha cuantificado en diferentes familias de plantas no comestibles, encontrándose que las concentraciones del aminoácido son 1 ó 2 órdenes de magnitud menores a las encontradas en tejidos animales, esto se ha visto en plantas superiores y algas, así también como en hongos y bacterias. (Roe y Weston, 1960; Jacobsen y Smith, 1966; Lähdesmäki, 1986).

El primer estudio sistemático realizado para analizar el contenido de taurina en alimentos de origen vegetal, reportó solamente la presencia de taurina en el frijol, estableciendo prácticamente su ausencia en una gran variedad de frutas, legumbres y semillas (Montenegro, 1987).

En un estudio realizado posteriormente (Fasantes-Morales et al., 1989) en el que se amplió el número de especímenes analizados, se encontraron resultados positivos en el contenido de taurina de algunas semillas de oleaginosas; la avellana, la nuez de la india y el piñón presentaron los niveles más altos del aminoácido (TABLA IV). En este mismo trabajo se encontraron concentraciones de taurina en dos variedades de frijol y se examinaron algunas semillas de leguminosas.

Como se mostró anteriormente, la fuente principal de taurina en la dieta es la carne; sin embargo, existen sectores en la población en los cuales, por razones socioeconómicas o culturales, el consumo de carne es bajo o inexistente, por lo que consideramos importante buscar alimentos que puedan reemplazar a

TABLA IV.- CONTENIDO DE TAURINA EN OLEAGINOSAS.

OLEAGINOSA	Concentración de taurina (nmolas/g)
Nuez de castilla	15.4 ± 1.7 (9)
Almendra	17.9 ± 2.6 (9)
Nuez de la india	38.3 ± 6.8 (9)
Pistache	4.9 ± 0.2 (7)
Avellana	46.8 ± 5.2 (9)
Pifión	33.4 ± 9.0 (9)
Semilla de calabaza	13.3 ± 2.4 (10)
Cacahuate	N.D.

N.D. no se detectó taurina.

Los resultados son el promedio ± el Error Estandar. Entre paréntesis se indica el número de determinaciones. (Pasantes-Morales et al., 1989)

la carne como fuente de taurina en la dieta.

En un trabajo anterior (Pasantes-Morales et al., 1989), en el que se analizó el contenido de taurina en alimentos de tipo vegetal, se encontró taurina en algunas semillas oleaginosas (TABLA IV) y en dos variedades de frijol. En estas últimas se observaron diferencias importantes entre una variedad y otra, por lo que se consideró importante extender el análisis a un mayor número de variedades de frijol y a otras semillas de leguminosas. A diferencia de las semillas oleaginosas, las leguminosas constituyen un elemento importante en la dieta, particularmente en poblaciones rurales de México (Bourges, 1987). Por lo que el presente trabajo está enfocado a determinar el contenido de taurina en semillas de 5 especies de leguminosas.

Con el objeto de conocer si los procedimientos habituales de preparación de las semillas para usarse como alimento no afectan su contenido en taurina, se examinaron los efectos de la cocción sobre la concentración de taurina y la lixiviación del aminoácido en los líquidos de remojo y de cocción.

Para llevar a cabo tales objetivos, fue necesario, además, establecer una metodología adecuada para el análisis del aminoácido en las semillas.

I.- PREPARACION DE LAS MUESTRAS.

Las semillas utilizadas para este estudio fueron 6 variedades de frijol común (Phaseolus vulgaris): "negro", "bayo", "garbancillo", "rosita", "flor de mayo" y "alubia", además de otras especies de leguminosas: haba (Vicia faba), soya (Glycine max), garbanzo (Cicer arietinum) y lenteja (Lens esculenta). Todas las semillas utilizadas fueron obtenidas directamente del mercado.

Para el análisis cuantitativo de la taurina en semillas crudas, se emplearon 500 mg de semilla seca macerada.

Para el análisis de muestras cocidas se utilizó una sola semilla con el objeto de evitar introducir el factor de variabilidad individual de las semillas en el estudio; esta semilla se pesó, fue macerada y se dividió en dos partes, de tal forma que una parte fue utilizada para llevar a cabo el análisis en la muestra sin cocer y la otra se utilizó para examinar el efecto de la cocción. Esto se hizo para cada una de las determinaciones en muestras cocidas.

Las semillas que se sometieron a cocción, fueron colocadas en tubos de vidrio con tapa de teflón; a cada muestra se le agregó agua bidestilada y se sometieron a baño maría durante 60 minutos. Posteriormente el contenido se centrifugó y se recuperó

el agua de cocción para analizarla de manera separada.

II.- ANALISIS CUANTITATIVO.

Las técnicas de extracción de aminoácidos libres, la separación de taurina y el análisis cuantitativo de este aminoácido en semillas de leguminosas se basaron en estudios realizados por Garvin (1960), Pasantes-Morales et al (1972) y por Geddes y Wood (1984), con algunas modificaciones que se detallan en la sección de resultados.

El método descrito a continuación es el establecido finalmente en el presente trabajo.

Extracción de aminoácidos solubles.

Cada muestra de semillas crudas se homogeneizó mecánicamente por medio de un pistón de teflón en alcohol etílico al 70% y posteriormente se centrifugó durante 10 minutos a 10 000 rpm; el sobrenadante se recuperó y el sedimento fue sometido a una segunda extracción con etanol al 70%, centrifugándose bajo las mismas condiciones. Al final se reunieron los dos sobrenadantes y se midió el volumen total.

En el caso de las muestras cocidas, el contenido del tubo se centrifugó para separar el agua de cocción y al sedimento obtenido se le agregó alcohol etílico al 70% para hacer la

extracción de los aminoácidos. Cada una de las muestras se homogeneizó para tratarse siguiendo las condiciones descritas anteriormente en el caso de las semillas crudas.

Una vez separada el agua de cocción, se lo trató con alcohol etílico absoluto, de tal manera que se obtuviera una disolución final de 70%. Posteriormente, cada una de las muestras se homogeneizó y se centrifugó en las condiciones descritas.

Deslipidización.

Con el propósito de extraer los lípidos de las semillas antes del análisis de los aminoácidos, tanto en las muestras crudas, como en las muestras cocidas y en el agua de cocción, se mezcló una parte del extracto alcohólico con cinco partes de cloroformo, se agitaron las muestras y se centrifugaron, obteniéndose de esta manera una bifase, cuya parte superior, conteniendo los aminoácidos libres, fue recuperada determinándose su volumen.

Cromatografía en columna de intercambio catiónico.

Para el análisis cromatográfico de los aminoácidos se utilizó un mililitro del extracto obtenido de la deslipidización. En cada muestra se ajustó el pH a 1 y se pasó a través de una columna de intercambio catiónico, empacada con resina BIO-RAD AG 50W-X8 (malla 100-200, forma hidrogenada), activada previamente y lavada con agua bidestilada hasta obtener el pH del agua. La resina fue empacada en pipetas Pasteur hasta una altura

aproximada de 7 cm y 0.5 cm de diámetro. Las muestras se eluyeron con agua bidestilada a pH 1.5 y se colectaron los primeros 3 ml del eluido.

El eluido neutralizado se filtró por medio de filtros MILLIPORE con un poro de 0.45 μm , para evitar el paso de impurezas a la columna utilizada en la cromatografía de líquidos.

Cuantificación de taurina.

La separación de la taurina se llevó a cabo mediante la formación de un derivado fluorescente (o-ftaldialdehído + taurina).

El reactivo o-ftaldialdehído (OPA) se preparó de acuerdo a la técnica descrita por Gaitone y Short (1971), de la siguiente manera:

- 0.5 mg de o-ftaldialdehído
- 250 μl de alcohol etílico absoluto
- 4.5 ml de ácido bórico 0.4 M, pH 10.4 y
- 250 μl de β -mercaptoetanol.

Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC).

De cada una de las muestras neutralizadas, se tomaron 50 μl y se mezclaron con (OPA) en una proporción 1:1, para el análisis

del derivado se utilizó el sistema GOLD de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) de BECKMAN, equipado con un detector de fluorescencia y con una columna ultrasférica XL DDS de 7 cm x 4.6 mm (fase inversa). La elución se llevó a cabo utilizando un gradiente de metanol/acetato de potasio 0.1 M a pH 5.5 (25%/75%), el cual se invierte a los 15 min.

En cada sesión de análisis cromatográfico se pasó por HPLC una solución patrón de taurina de concentración conocida contra la cual se compararon las muestras. La comparación se realizó tomando en cuenta el área del pico correspondiente a la taurina en el cromatograma de la solución patrón y en el de las muestras.

Los valores obtenidos en el análisis cromatográfico se corrigieron por las diferentes diluciones a las que se sometió la muestra.

R E S U L T A D O S

I.- MODIFICACIONES A LA TÉCNICA.

a) Extracción de aminoácidos libres.

Las modificaciones a la técnica de Garvin (1960), se enfocaron inicialmente a verificar la eficiencia del proceso de extracción de los aminoácidos libres; la utilización de ácido perclórico para la extracción presenta una recuperación del 50% aproximadamente y al final del proceso cuantitativo, la

TABLA V.- RECUPERACION DE TAURINA- ^3H EXTRAIDA CON ACIDO PERCLORICO.

muestra/ ác.perclórico (V/V)	Extracción (%)	1er lavado (%)	2o lavado (%)	total recuperado (%)
* 1:2	54.13	1.25	0.18	55.56
**1:9	60.50 ± 5.7	0.84 ± 0.9	1.81 ± 2.1	63.20 ± 4.42

* Resultados obtenidos a partir de un experimento.

** Los resultados obtenidos son el promedio ± el Error Estandar de 2 experimentos.

En cada experimento se utilizó $1\mu\text{Ci}$ de taurina- ^3H .

recuperación global es de sólo 16%. Con el fin de aumentar la recuperación de taurina, se modificó el volumen de ácido perclórico para la extracción, pasando de 2 ml a 9 ml en la extracción y 4.5 ml en los lavados (TABLA V), sin embargo, el rendimiento fue de todas maneras bajo para la extracción de ácidos libres.

Debido a los resultados anteriores se decidió utilizar una técnica diferente para la extracción de los aminoácidos empleando alcohol etílico al 70%, como se describió en la sección de métodos. La recuperación en estas condiciones se muestra en la TABLA VI.

De los resultados obtenidos se concluyó que con la extracción alcohólica se obtiene una mayor recuperación que mediante la extracción con ácido perclórico. Aunque el lavado del sedimento no aumenta significativamente la recuperación (TABLA VI), se decidió hacerlo en forma rutinaria para tratar de extraer la totalidad del aminoácido, puesto que la concentración de taurina en los tejidos vegetales es en sí baja.

b) Deslipidización.

Para verificar el efecto de la deslipidización sobre la recuperación de taurina, se mezclaron 4 ml del extracto alcohólico con 1 uCi de taurina- ^3H y se siguió el proceso de deslipidización descrito anteriormente. El contenido de taurina-

TABLA VI. - RECUPERACION DE TAURINA-³H EXTRAIDA CON ALCOHOL ETILICO AL 70%.

<i>Extracción</i>	<i>1er lavado</i>	<i>2o lavado</i>	<i>total recuperado</i>
<i>(%)</i>	<i>(%)</i>	<i>(%)</i>	<i>(%)</i>
<i>77.54</i>	<i>1.30</i>	<i>0.13</i>	<i>78.97</i>

*Los resultados obtenidos son el promedio de 3 experimentos.
En cada experimento se utilizó 1 μ Ci de taurina-³H*

³H en la fase acuosa recuperada se midió por técnicas radiométricas en un contador de centelleo líquido, y se obtuvo una recuperación del 99.7%.

Los resultados obtenidos indican que durante la deslipidización prácticamente no se pierde taurina; por lo tanto este procedimiento no fue modificado.

c) Columna de intercambio catiónico.

Una de las mayores dificultades para el análisis de muestras biológicas es la presencia de sustancias con patrones de corrimiento cercanos a los de la taurina y que pueden conducir a imprecisiones en la cuantificación (Holme y Peck, 1983). Con el objeto de separar a este aminoácido de otros compuestos, se utilizó la cromatografía de intercambio iónico con las siguientes modificaciones:

Se utilizó un sólo tipo de resina como fase estacionaria de la columna de separación. Se utilizaron columnas de intercambio catiónico de 7 cm de altura por 0.5 cm de diámetro, empacadas con resina BIO-RAD AG 50W-X8 (malla 100-200, forma hidrogenada).

El hecho de utilizar columnas con una sola resina hizo necesario establecer las condiciones de pH óptimo de la muestra a analizar, así también como el del líquido de elución. Este control es muy importante ya que el pH de la solución determina la especie iónica predominante y por tanto su afinidad por la

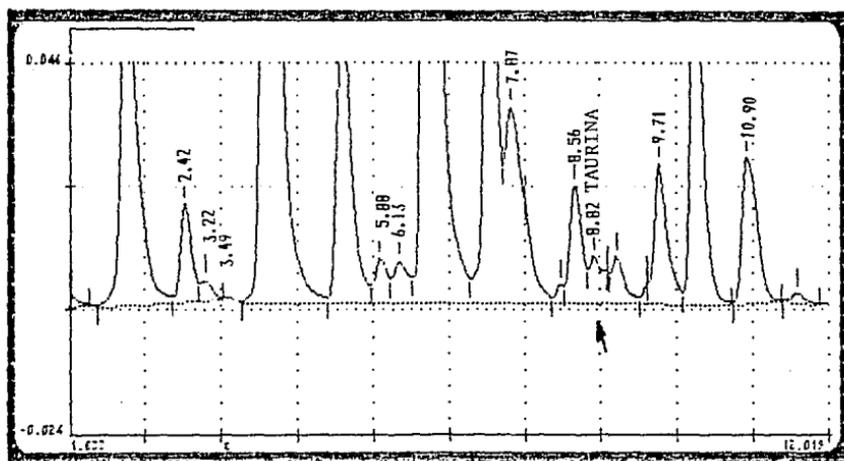
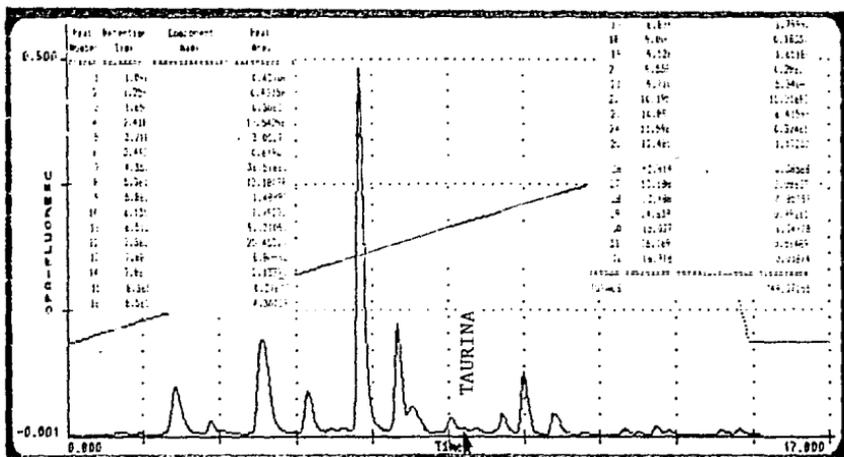


Figura 3a.- Cromatograma de una muestra de frijol negro antes de ser eluida a través de la columna de intercambio catiónico. En la ampliación de la parte inferior puede observarse el gran número de aminoácidos presentes en la muestra, donde el pico correspondiente a la taurina se encuentra traslapado con otros aminoácidos.

La línea punteada representa el comportamiento del gradiente durante el tiempo que dura la elución. El gradiente inicia con 25% de metanol y 75% de buffer de acetatos. A los 15 min la proporción de eluyentes se invierte.

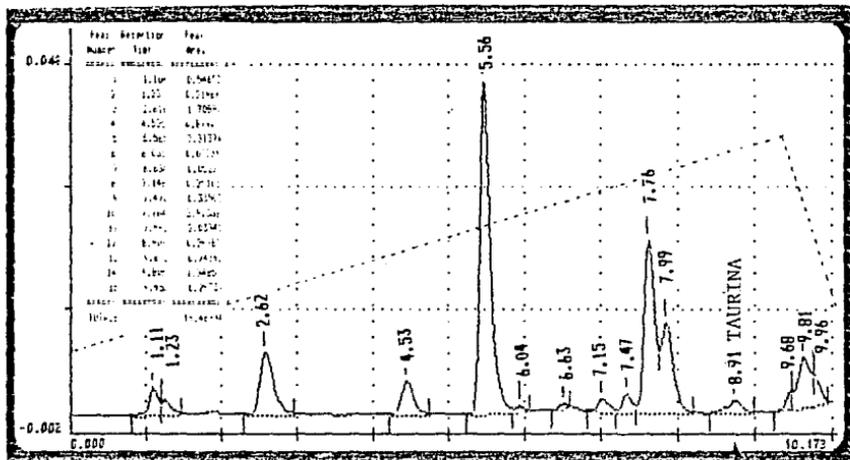


Figura 3h.- Cromatograma de una muestra de frijol negro después de ser eluida a través de la columna de intercambio catiónico. La flecha señala el pico de taurina totalmente separado de otros aminoácidos.

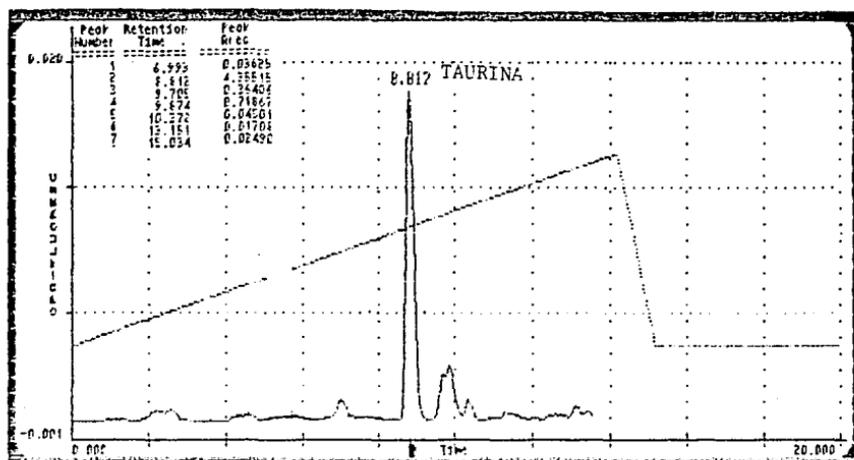


Figura 4.- Cromatograma de una muestra patrón de taurina contra la cual fueron comparadas cada una de las muestras.

El área correspondiente al pico de taurina en cada muestra se comparó con la obtenida de la solución patrón y posteriormente se corrigió por las diferentes diluciones para obtener la concentración del aminoácido en cada muestra.

Durante cada sesión de análisis en Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC), se corrió la solución de taurina con una concentración de 60 nmol/10 µl.

resina.

Para determinar los valores óptimos de pH y la capacidad de separación de la columna, se utilizó taurina- ^{35}S y ácido L-aspartico ^{14}C , ambos aminoácidos con un pK muy cercano entre sí (por lo que se consideró podrían comportarse de manera semejante en este tipo de columna). La muestra se pasó a través de la columna de intercambio catiónico, se modificó su pH y el del eluyente en un rango pequeño, hasta encontrar las condiciones adecuadas para una buena separación, las cuales, finalmente fueron: pH 1 para la muestra y pH 1.5 para el líquido de elución (TABLA VII).

Una vez establecidas las condiciones adecuadas para la elución, se pasó a través de la columna una solución patrón de taurina para determinar el volumen en el cual se eluye la totalidad del aminoácido. Se recuperó el eluido en fracciones de un mililitro, hasta completar 6 ml, después se analizó cada una de las muestras obtenidas. Como puede observarse en la figura 2, al colectar los tres primeros ml de la muestra, se recupera alrededor del 90% de la taurina.

En la figura 3a y 3b se pueden observar los cromatogramas de una muestra de frijol, antes y después de pasar a través de la columna de intercambio catiónico. En la figura 4 se muestra un cromatograma de la solución patrón de taurina contra la cual fueron comparadas las muestras. La comparación se realizó tomando

TABLE VII.- CAPACIDAD DE SEPARACION DE LA COLUMNA DE INTERCAMBIO CATIONICO EN FUNCION DEL pH DE LA MUESTRA Y DEL LIQUIDO DE ELUCION.

MUESTRA *	pH	pH ELUYENTE	RECUPERACION **
Aspártico + Taurina	1.0	2.0	Asp 9.16% Tau 54.75%
Aspártico + Taurina	1-1.5	1.0	Asp 93.0% Tau 99.0%
Aspártico + Taurina	1.0	1.5	Asp 6.9% Tau 84.2%

* Para cada elución se utilizó: taurina-³ (1 uCi), taurina no radiactiva 0.5 umolas y ácido L-aspártico 14C, ácido L-aspártico no radiactivo 0.5 umolas.

** El porcentaje de radiactividad recuperado corresponde al obtenido en los primeros 3 ml.

EFICIENCIA DE LA COLUMNA

DE INTERCAMBIO CATIONICO

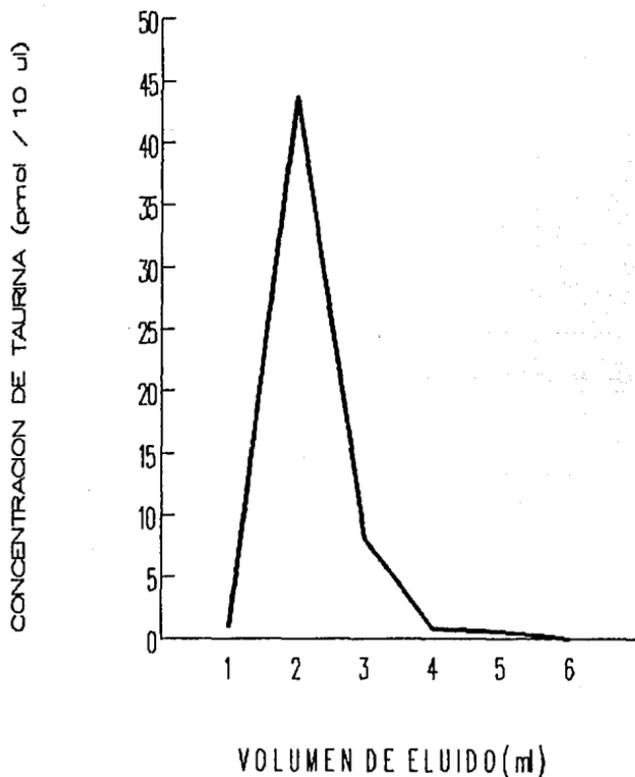


Figura 2.- Perfil de elución de una solución patrón de taurina en una columna de intercambio catiónico (BIO RAD 50W-X8), en el cual se puede observar que durante los primeros tres mililitros de eluido se recupera alrededor de un 90% del aminoácido.

Para este análisis se utilizó una solución patrón de taurina de 60 pmol/10 µl a un pH de 1, la cual se eluyó con agua a pH 1.5 a través de la columna de intercambio catiónico. El eluido se colectó en fracciones de 1 ml, hasta obtener 6 ml. Cada fracción se neutralizó y fue analizada por Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC).

en cuenta el área del pico correspondiente a la taurina en el cromatograma de la solución patrón y en el de las muestras.

d) Cuantificación de taurina.

Una vez que la muestra se eluyó a través de la columna de intercambio catiónico, fue necesario neutralizar el eluido colectado para que la reacción con OPA se llevara a cabo a un pH alcalino.

Reacción con OPA:

La derivación de los aminoácidos se llevó a cabo con OPA, el cual en presencia de un agente reductor, en este caso el 2-mercaptoetanol, reacciona con las aminas primarias en un medio alcalino, dando lugar a la formación de isoindoles, los cuales tienen un grupo tioalquilo altamente fluorescente (Simons y Johnson, 1976). Este compuesto reacciona con las aminas primarias con una sensibilidad en la escala de picomolas, lo cual es importante para el análisis de taurina en los vegetales.

Para efectuar la derivación, se mezcló una parte de la muestra con una parte de OPA. La reacción con OPA se llevó a cabo durante tres minutos; posteriormente se tomó una alícuota de la mezcla y se inyectó en la columna del sistema de cromatografía líquida HPLC, iniciándose al mismo tiempo el gradiente (25% metanol y 75% buffer de acetatos, el cual se invierte a los 15 minutos). Debido a que la estabilidad del derivado OPA-

aminoácidos es limitada, se cuidó que el tiempo entre la mezcla y la inyección en el HPLC fuera el mismo para cada muestra (Joseph y Mardsen, 1986).

Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC).

La cromatografía líquida de alta resolución es un método de separación muy sensible. Debido a las bajas concentraciones de taurina reportadas en los vegetales, esta técnica es de gran utilidad para el propósito del presente trabajo.

Aunque existen diferentes métodos de separación en HPLC, para esta parte del análisis se utilizó la técnica de Geddes y Wood (1984), en la cual la muestra se analiza ya derivada con OPA a través de un cromatógrafo líquido de alta resolución de fase inversa. Una ventaja de este método de separación es que utiliza un detector de fluorescencia, el cual presenta una gran selectividad y sensibilidad; la detección por fluorescencia es una técnica poderosa cuando se realizan análisis de sustancias que existen en muy pequeña cantidad (Stuart y Hill, 1984). Es importante mencionar que existe la derivación con otros agentes diferentes al OPA/mercaptoetanol, seguida por separación en HPLC y detección por fluorescencia, por ejemplo el cloruro de dansilo o el cloruro de dabsilo (DABS-Cl); sin embargo, el procedimiento de derivación es algo más complicado, debido a que la muestra es sometida a altas temperaturas (70-100 °C) y en el caso del DABS-Cl, no se logra una buena resolución para la taurina.

Por otra parte, a través del método de Geddes y Wood (1984) se ha logrado una separación satisfactoria de la taurina en diferentes tipos de muestras, por lo cual se decidió utilizar este método para el análisis de taurina en las semillas de leguminosas.

II.- CONTENIDO DE TAURINA EN SEMILLAS DE LEGUMINOSAS.

Los resultados del análisis en las semillas de leguminosas se muestran en las tablas VIII y IX. La concentración de taurina está expresada en nanomolas por gramo de tejido.

En la tabla VIII se encuentran las concentraciones de taurina presentes en las diferentes variedades de frijol analizadas, las cuales variaron dentro de un rango de 6 a 18 nmolas/g.

El frijol "garbancillo" contiene la mayor cantidad de taurina, con un promedio de 18.85 ± 1.34 nmol/g de un total de 57 muestras analizadas. El frijol "negro", con respecto a las demás variedades de frijol, también contiene concentraciones altas del aminoácido con un promedio de 16.80 ± 1.22 nmol/g de 71 muestras.

El frijol de la variedad "flor de mayo" presentó un promedio de 14.64 ± 2.17 nmol/g de taurina de un total de 27 muestras. En el frijol "rosita" la concentración determinada fue de 12.12 ± 1.33 nmol/g para 28 muestras, mientras que para el frijol "alubia" fue de 11.53 ± 3.64 nmol/g para 8 muestras.

TABLA VIII.- CONCENTRACION DE TAURINA EN DIFERENTES VARIEDADES DE FRIJOL (Phaseolus vulgaris).

VARIEDAD DE FRIJOL (<u>Phaseolus vulgaris</u>)	CONCENTRACION DE TAURINA (nmolas/g)
Frijol garbancillo	18.85 ± 1.34 (57)
Frijol negro	16.80 ± 1.22 (71)
Frijol flor de mayo	14.64 ± 2.17 (27)
Frijol rosita	12.12 ± 1.33 (28)
Frijol alubia	11.53 ± 3.64 (8)
Frijol bayo	6.80 ± 2.24 (29)

La concentración de taurina está expresada en promedio ± el Error Estandar. Entre paréntesis se indica el número de determinaciones.

El frijol "bayo" presentó la menor concentración de taurina con un promedio de 6.80 ± 2.24 nmol/g, obtenido de 29 muestras. En algunas muestras de esta variedad no se detectó la presencia de este aminoácido.

A través del análisis de varianza y de la prueba múltiple de medias (Hayslett, 1982) se determinó que existe diferencia significativa entre las variedades de frijol examinadas en el presente estudio, excepto entre las variedades "rosita" (12.12 ± 1.33 nmol/g) y "alubia" (11.75 ± 3.2 nmol/g).

La concentración de taurina presente en el frijol "bayo" (6.80 ± 2.24 nmol/g) representa el 36.82% del aminoácido encontrado en la variedad "garbancillo" (18.85 ± 1.34 nmol/g).

En la TABLA IX se muestran los resultados obtenidos en el análisis de otras especies de leguminosas. Estas semillas fueron analizadas por el mismo procedimiento que los frijoles.

El garbanzo (Cicera reiterum) presenta la mayor concentración de taurina con un promedio de 18.90 ± 2.81 nmol/g, obtenido a partir de 22 muestras. El haba (Vicia faba), presenta un promedio de 17.35 ± 3.09 nmol/g, de 25 muestras analizadas. En la lenteja (Lens esculenta) los niveles de taurina son de 15.29 ± 4.23 nmol/g, de un promedio de 19 muestras analizadas. La soya (Glycine max), con 6.37 ± 2.03 nmol/g de 19 muestras promediadas, fue la semilla con la menor cantidad de taurina encontrada en el análisis.

TABLA IX. - CONCENTRACION DE TAURINA EN SEMILLAS DE DIFERENTES ESPECIES DE LEGUMINOSAS.

SEMILLAS DE LEGUMINOSAS (especie)	CONCENTRACION DE TAURINA (nmolas/g)
Garbanzo (<u>Cicera reiterum</u>)	18.90 ± 2.81 (22)
Haba (<u>Vicia faba</u>)	17.35 ± 3.09 (25)
Lenteja (<u>Lens esculenta</u>)	15.29 ± 4.23 (19)
Soya (<u>Glycine max</u>)	6.37 ± 2.03 (19)

La concentración de taurina está expresada en promedio ± el Error Estandar, entre paréntesis se indica el número de determinaciones.

III.-EFECTO DEL REMOJO Y LA COCCION SOBRE EL CONTENIDO DE TAURINA EN LAS SEMILLAS DE FRIJOL.

Los frijoles son semillas duras y normalmente requieren de remojo y cocción prolongada para ser consumidas como alimento. El efecto del remojo y de la cocción sobre el contenido de taurina en los frijoles se analizó en la variedad que presentó mayor contenido del aminoácido en las semillas secas.

En la tabla X se puede observar que un 40-50% de la taurina contenida en las semillas secas, se encuentra en el líquido de remojo. Las semillas sometidas a cocción durante una hora incrementaron la concentración de taurina aproximadamente un 160% (TABLA XI). En el presente estudio se incluyó una solución patrón de taurina como control en todos los procedimientos experimentales y como se esperaba, no hubo cambio en la concentración de taurina en esta solución.

TABLA X.- CONTENIDO DE TAURINA EN SEMILLAS DE LEGUMINOSAS
SOMETIDAS A REMOJO.

	VARIEDAD DE FRIJOL (<i>Phaseolus vulgaris</i>)	
	Frijol garbancillo	Frijol negro
CONCENTRACION DE TAURINA EN SEMILLA SIN REMOJAR.	18.19 ± 2.2 (6)	20.8 ± 3.7 (4)
CONCENTRACION DE TAURINA EN AGUA DE REMOJO.	9.21 ± 3.09 (6)	8.35 ± 1.5 (4)

La concentración de taurina está expresada en nanomolas por gramo de semilla sin remojar ± el Error Estandar del número de determinaciones indicadas entre paréntesis.

TABLA XI.- CONCENTRACION DE TAURINA EN SEMILLAS DE FRIJOL "GARBANCILLO" (*Phaseolus vulgaris*) SOMETIDAS A COCCION.

(nmolas/g de semilla cruda)

CONCENTRACION DE TAURINA EN SEMILLA CRUDA	21.3 ± 6.39
CONCENTRACION DE TAURINA EN SEMILLA COCIDA	33.7 ± 7.6
CONCENTRACION DE TAURINA EN EL AGUA DE COCCION	22.3 ± 6.05

La concentración de taurina está expresada en promedio ± el Error Estandar de 5 determinaciones.

DISCUSION

La taurina ha sido considerada en los últimos años como un nutriente esencial en algunas especies, debido principalmente a los resultados obtenidos en diferentes investigaciones hechas en modelos animales.

En las primeras investigaciones se observó que los gatos adultos alimentados con una dieta deficiente en taurina presentan profundas alteraciones en la estructura de los fotorreceptores, caracterizadas por vesiculación y desintegración de las membranas con una progresiva disminución en la amplitud del ERG y posteriormente la muerte de las células fotorreceptoras que conducen a la irreversible pérdida de la capacidad visual (Hayes et al, 1975a y 1975b).

Por otra parte, los monos lactantes que son alimentados con fórmulas libres de taurina presentan bajos niveles de taurina plasmática y un abatimiento de las pozas tisulares del aminoácido, así como alteraciones en el ERG y decremento en la agudeza visual (Sturman et al, 1984; Neuringer y Sturman, 1987). También se ha observado que los niños alimentados con fórmulas lácteas libres de taurina, presentan niveles del aminoácido disminuidos tanto en plasma como en orina (Rassin et al, 1983).

Asimismo, se ha visto que los pacientes alimentados con nutrición parenteral durante un período prolongado, presentan

alteraciones visuales (Geggel et al, 1985) y bajos niveles de taurina en plasma y orina. En el hombre, la deficiencia de taurina causa alteraciones que no son tan severas como las que se observan en el gato. Es importante mencionar que el gato es una especie que utiliza de manera obligada a la taurina para la conjugación de sus ácidos biliares, por lo cual las pozas del aminoácido se gastan continuamente. Por el contrario, el hombre al igual que el mono, pueden sustituir a la taurina por glicina como conjugante.

Se ha observado que las anormalidades causadas por bajos niveles de taurina en la retina de gatos pueden ser prevenidas al suplementar la dieta con este aminoácido, antes de que se produzca un daño irreversible (Berson et al, 1976).

El requerimiento de taurina es importante para el desarrollo normal del cerebro, ya que en gatos nacidos de madres deficientes en taurina y en monos lactantes que reciben una fórmula carente del aminoácido, se ha observado un retardo en la maduración y una alteración en la migración de las células, tanto en la corteza cerebral, como en la corteza cerebelar (Sturman 1983; Sturman et al, 1985b). Todas las especies en las que se han observado consecuencias adversas por la deficiencia en taurina, poseen una capacidad limitada de síntesis de este aminoácido a partir de precursores endógenos (Jacobsen et al, 1964) y dependen principalmente de la dieta para mantener sus pozas de taurina, incluyendo la leche materna (Sturman et al, 1987).

En el hombre, los procesos de diferenciación, maduración y organización celular del sistema nervioso se llevan a cabo después del nacimiento, en los cuales se definen los ajustes estructurales y se establecen las conexiones intercelulares que dan origen a los circuitos nerviosos. Los estudios anteriormente mencionados, nos indican la importancia que representa la taurina en la dieta durante el desarrollo y dado que la leche es la principal fuente exógena de taurina durante los primeros meses después del nacimiento, señalan un riesgo potencial para el desarrollo óptimo del cerebro en los lactantes nacidos de madres cuya dieta es pobre en taurina.

La taurina está presente en altas concentraciones en el músculo (6-40 mM), (Jacobsen y Smith, 1968) y consecuentemente, la carne es la fuente natural del aminoácido en la dieta. Sin embargo, la inclusión de carne en la dieta puede estar considerablemente restringida en algunos sectores de la población, ya sea por razones culturales o socioeconómicas, por lo cual es muy importante identificar fuentes alternativas de taurina para prevenir el establecimiento de una condición de deficiencia de este aminoácido entre la población.

Si bien se han llevado a cabo varios estudios sobre el contenido de taurina en diferentes familias de plantas, la mayoría de éstos no se han hecho con un enfoque nutricional. El primer estudio en el que se reportó la presencia de taurina en el frijol (Phaseolus vulgaris) fue realizado por Lähdesmäki (1986),

en el cual se hizo una comparación con otros tejidos de plantas no comestibles. Posteriormente se llevaron a cabo estudios sistemáticos en diferentes alimentos, tanto de origen animal como de origen vegetal (Montenegro, 1987; Fasantes-Morales et al., 1989), en los cuales se encontraron niveles detectables de taurina en frijol, en otras semillas de leguminosas y en semillas oleaginosas, pero no así en frutas, verduras, cereales y un número importante de semillas tales como café, cacao, semilla de girasol y ajonjolí. Hubo diferencias significativas en 2 variedades de frijol analizadas, frijol "negro" y frijol "bayo" por lo que se consideró de interés extender el estudio a un mayor número de variedades de frijol y a otras semillas de leguminosas.

En el presente estudio, las semillas de leguminosas examinadas mostraron concentraciones de taurina entre 6 y 18 nmol/g, resultados que coinciden con los obtenidos en análisis de estudios anteriores (Fasantes-Morales et al., 1989). Estas concentraciones de taurina en las células vegetales son extremadamente bajas en comparación con las observadas en los animales.

Debido a que los frijoles son semillas que deben ser sometidas a remojo y posteriormente a un largo periodo de cocción para ser consumidas como alimento, en el presente trabajo se observó el efecto de ambos procedimientos sobre el contenido de taurina en los frijoles. Se observó que durante el remojo, se pierde de un 40 a un 50% del total observado en semillas secas,

aunque es recuperable en el agua, lo cual indica la importancia de no desechar el líquido de remojo. Respecto al contenido de taurina en semillas cocidas, en las que se encontró un concentración 160% mayor del aminoácido en comparación a la semilla sin cocer, el incremento puede ser debido a que mejoran las condiciones de extracción en la semilla después de ser sometida a cocción, o quizá a que hay un incremento de taurina posterior a la liberación del aminoácido a partir de combinaciones químicas destruidas por el procedimiento de cocción. Estos resultados deben tomarse en cuenta al considerar el valor nutricional del frijol en términos del aporte de taurina.

El contenido de taurina en las diferentes variedades de frijol y en las otras semillas de leguminosas examinadas en este estudio es casi 300 a 500 veces menor que el encontrado en la carne (Jacobsen y Smith, 1968; Pasantes-Morales et al., 1989), lo cual significa que aun consumiendo grandes cantidades de estos alimentos, el aporte total de taurina es muchas veces menor en comparación con el de la carne. Sin embargo, esta cantidad podría ser suficiente para satisfacer las necesidades diarias de taurina. Hasta la fecha el requerimiento diario de este aminoácido en el hombre no ha sido determinado, pero puede ser estimado indirectamente a partir del balance entre la taurina ingerida y la excretada. Las concentraciones de taurina en orina aunque muestran grandes variaciones ($903 \pm 580 \mu\text{mol/d}$), (Laidlaw et al., 1988) son altas y si se considera que la cantidad de taurina encontrada en una porción regular de carne roja de 100 g

es aproximadamente de 600 $\mu\text{mol/g}$, aun tomando en cuenta los valores más bajos de excreción, los cálculos indican que la carne provee una cantidad mucho mayor de taurina de la que parece ser necesaria para los requerimientos normales.

En apoyo a lo anterior, se ha observado que la excreción de taurina en la orina de personas con hábitos vegetarianos es relativamente alta ($226 \pm 279 \mu\text{mol/d}$), (Laidlaw *et al.*, 1988). Evidencias experimentales de estudios en animales muestran que la excreción renal de taurina está relacionada con la ingestión (Segal y Thier, 1973), por lo tanto, la persistencia de taurina en la orina de vegetarianos puede tomarse como una demostración indirecta de que la ingestión del aminoácido no es excesivamente baja. La taurina en estos individuos podría provenir tanto de las semillas oleaginosas como de las leguminosas. Sin embargo, el aporte proporcionado por las oleaginosas sería limitado debido a que son alimentos que se consumen en cantidades relativamente bajas y de manera ocasional, mientras que las leguminosas y principalmente los frijoles se consumen con mayor frecuencia y en cantidades mayores. Esto hace a las leguminosas un constituyente dietario comparativamente más importante como fuente de taurina exógena.

Las comunidades rurales, la población indígena de México y principalmente algunos sectores marginados en la población urbana tienen niveles de nutrición inadecuados. El consumo de carne es en general bajo. Aunque, como se mencionó en la introducción, los

insectos son importantes fuente de taurina y en ocasiones, principalmente entre las comunidades indígenas, forman parte de la dieta, lo que hace a estas comunidades menos susceptible a sufrir una deficiencia en el aminoácido. Entre estos sectores de la población el frijol es un componente esencial de la dieta y se consume en grandes cantidades (Bourges, 1987), siendo posible que el aporte de taurina sea comparable al proporcionado por otros componentes de la dieta de origen animal. Sin embargo, existe una tendencia a reemplazar el frijol como componente esencial de la dieta por otro tipo de alimentos como pastas y por otros alimentos constituidos esencialmente por carbohidratos.

De acuerdo a los resultados del presente trabajo, es de interés enfatizar la importancia de incluir leguminosas en la dieta durante la lactancia en mujeres de comunidades en las que estas semillas son un elemento esencial en la dieta, para asegurar un suplemento exógeno apropiado de taurina a los lactantes a través de la leche materna. Esta recomendación es importante ya que existe la costumbre de incluir alimentos especiales durante la lactancia, lo cual puede reemplazar el suplemento normal de frijoles con posibles efectos adversos sobre el contenido de taurina en la leche y el desarrollo óptimo del cerebro del lactante. Asimismo, tomando en cuenta que el período de maduración del cerebro en humanos se lleva a cabo en un lapso aproximado de 5 años después del nacimiento, la inclusión de leguminosas en la dieta de los infantes después del destete es altamente recomendable.

Por otra parte, los diferentes estudios realizados sobre el contenido de taurina en plantas, han mostrado concentraciones bajas en comparación a las encontradas en tejidos animales. Los resultados de los análisis realizados en diferentes familias de vegetales, así como en hongos y bacterias, muestran concentraciones de taurina de 1 a 2 órdenes de magnitud menores a las encontradas en tejidos animales (Roe y Weston, 1965; Jacobsen y Smith, 1968; Lähdesmäki, 1986). Los niveles más altos de taurina (10-100 nmol/g peso húmedo) han sido reportados en diferentes especies de algas marinas (Gelidium subcostatum, Grateolupia elliptica, Laminaria japonica, Sargassum fulvellum y Codium fragile), (Kataoka y Ohnishi, 1986), mientras que en familias de plantas terrestres, este aminoácido se ha encontrado en bajas concentraciones y en algunas plantas no ha sido detectado (Lähdesmäki, 1986; Kataoka y Ohnishi, 1986). Montenegro (1987) llevó a cabo un análisis en vegetales comestibles reportando la ausencia de taurina en diferentes especies. Lähdesmäki (1986)., reportó por primera vez la presencia del aminoácido en semillas de Phaseolus vulgaris, posteriormente los estudios de Pasantes-Morales et al (1989) mostraron niveles de taurina en frijol y en algunas semillas oleaginosas; en los resultados del presente trabajo, se confirma la presencia del aminoácido en diferentes variedades de frijol y en otras especies de leguminosas.

Aunque la función de la taurina no ha sido aclarada totalmente, se sabe que los aminoácidos libres y en particular la

taurina, juegan un papel muy importante en la regulación del volumen celular en tejidos de algunos vertebrados. La regulación del volumen, aun en condiciones isosmóticas, es un requerimiento fundamental de las células animales, cuya membrana plasmática es permeable a agua y a algunos iones. Algunas células animales requieren una gran flexibilidad para llevar a cabo diferentes funciones, incluyendo el movimiento, los procesos de secreción, división celular, etc., que generan cambios microscópicos, transitorios y locales en el volumen celular, que deben ser regulados. Por ello muchas de estas células animales han desarrollado mecanismos para el control del volumen celular (Pasantes-Morales y Martín del Río, 1990). Por el contrario, en las células vegetales, la celulosa provee una cubierta rígida que ofrece una gran resistencia al hinchamiento hidrostático. Sin embargo, esto no exenta a las plantas de sufrir alteraciones celulares durante cambios en la osmolaridad del medio, como los que se llevan a cabo en las semillas durante la germinación.

La presencia de taurina en semillas y no así en las plantas, nos sugiere que este aminoácido puede jugar un papel importante durante la fase de desarrollo de éstas. La semilla es una estructura en reposo que normalmente está deshidratada, conteniendo del 5 al 20% de agua de su peso total (Bidwell, 1979); para llevar a cabo la germinación, la semilla tiene que absorber una gran cantidad de este líquido, lo cual trae consigo cambios osmóticos que alteran el volumen celular y que de alguna manera deben ser regulados. Es posible que la taurina esté involucrada en los mecanismos de regulación de volumen en las

semillas en las que se presenta.

La evolución de los organismos y su adaptación tienen lugar tanto en sentido fisiológico y bioquímico como a través de cambios en la anatomía y morfología. Las plantas dependen considerablemente de mecanismos fisiológicos o bioquímicos para sobrevivir y en consecuencia, han desarrollado una fina y variada fisiología. Aunque no se ha llevado a cabo ningún estudio al respecto, quizá las semillas presentan mecanismos de regulación de volumen celular, en los que la taurina esté involucrada y tal vez en las diferentes especies vegetales existen, al igual que en las células animales, otros aminoácidos u otras sustancias que puedan funcionar como osmolitos para llevar a cabo la regulación del volumen durante la hidratación de las semillas, lo que explicaría el porqué no todas las semillas examinadas presentan taurina.

REFERENCIAS.

- Ament, M.E., Geggel H.S., Heckenlively J.R., Martin, D.A. y Kopple, J. (1986) Taurine supplementation in infants receiving long-term total parenteral nutrition. J. Am. Coll. Nutr. 5: 127-135.
- Awapara, J. (1976). The metabolism of taurine in the animal. En: Taurine (Eds. Huxtable R.J. y Barberau A.). Raven Press E.U. pp. 1-19.
- Baskin, S.L. y Dagimanjian, R. (1973). Possible involvement of taurine en the genesis of muscular dystrophy. Nature : 245-464.
- Berson, E.L., Hayes, K.C., Rabin, A.R. y Schmidt, S.Y. (1976). Retinal degeneration in cats fed casein: II. Supplementation with methionine, cysteine or taurine. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 15: 52-58.
- Bidwell, R.G.S. (1979). Fisiología vegetal 1a edición. Editor AGT. México 784 pp.
- Bourges, R.N. (1987). Las leguminosas en la alimentación humana. Cuad de Nutr. 10: 17-32.
- Brueton, M.J., Benger, H.M., Brown, G.A., Abbitt, L., Iyngkaran, N. y Wharton, B.A. (1978). Duodenal bile acide conjugation patterns and dietary sulphur aminoacids in the newborn. Gut 19: 95-98.
- Crabai, F., Sitzia, A. y Pepeon, G. (1979). Taurine concentration in the neurohypophysis of different animal species. J. Neurochem. 23: 1091-1092.
- Chatagner, F. y Bergeret, P. (1952). Désulfination et descarboxylation enzymatiques de l'acide L-cysteine-sulfonique: sa transformation quantitative en alanine et hipotaurine. Biochim. Biophys. Acta. 15:301-303.
- Florkin, M. y Schoffeniels, E. (1965). Euryalinity and the concept of physiology radiation. En: Studies in comparative biochemistry. (Ed. Munda K.A.) Pergamon Press. Inglaterra. pp. 6-

Gaitone, M.K. y Short, R.A. (1971). Quantitative determination of taurine by an o-phthalaldehyde-urea reaction. Analyst, 96:274-280.

Garvin, J.E. (1960). A new method for determination of taurine in tissues. Arch. Biochem. Biophys. 91: 219-225.

Gaull, G.E. (1982). Taurine nutrition in man. En: Taurine nutrition and neurology. (Eds. Huxtable R. y Pasantes-Morales H.). Plenum Press. E.U. pp. 89-95.

Gaull, G.E., Pasantes-Morales H., Wright, C.E. (1985). Taurine in human nutrition: overview. En: Taurine: Biological actions and clinical perspectives. (Eds. Oja, S.S., Ahtee, L., Kontro, P. y Paasonen, M.K.) Alan R. Liss Inc. E.U. pp. 3-21.

Geddes, J.W., Wood, J.D. (1984). Changes in the amino acid content of nerve endings (synaptosomes) induced by drugs that alter the metabolism of glutamate and gamma-aminobutyric acid. J. Neurochem. 42:16.

Geggel, H.S., Ament, M.E., Heckenlively, J.R., Kopple, J.D. (1982). Evidence that taurine is an essential amino acid in children receiving total parental nutrition. Clin. Res. 30: 486A

Geggel, H.S., Ament, M.E., Heckenlively, J.R., Martin, D.S. y Kopple, J.D. (1985). Nutritional requirements for taurine in patients receiving long term parenteral nutrition. New England J. Med. 312: 141-146.

Gilles, R. (1979). Intracellular organic osmotic effectors. En: Mechanisms of osmoregulation in animals. (Ed. Gilles, R.) John Willey. Chichester. 111-154.

Hayes, K.C., Carey, R.E. y Schmidt, S.Y. (1975a). Retinal degeneration associated with taurine deficiency in cats. Science 188: 949-951.

Hayes, K.C., Rabin, A.R. y Berson, E.L. (1975b). An ultrastructural study of nutritionally induced reversed retinal degeneration in cats. Am. J. Pathol. 78: 504-524.

Hayes, K.C. y Sturman, T.A. (1981). Taurine in metabolism. A.

Hayslett, H.T. (1982). Estadística. 8a edición 209 pp.

Holme, D. y Peck, H. (1983). Analytical Biochemistry. la edición. Longman. E.U. pág. 76-151.

Huxtable, R.J. y Bressler, R. (1973). Effect of taurine on a muscle intracellular membrane. Biochem. Biophys. Acta, 323: 573-583.

Huxtable, R.J. y Bressler, R. (1974). Elevation of taurine in human congestive heart failure. Life Sci, 14: 1353-1359.

Imaki, H., Moretz, R., Wisniewski, H., Neuringer, M., Sturman, J. (1987). Retinal degeneration in three-months-old rhesus monkey infants fed a tau-free human infant formula. J. Neurosci. Res, 18: 602-614.

Jacobsen, J.G., Thomas, L.L. y Smith, L.H. (1964). Properties and distribution of mammalian L-cystein sulfinatase descarboxilases. Biochim. Biophys. Acta 85: 103-108.

Jacobsen, J.G. y Smith, L.L.H. (1968). Biochemistry and physiology of taurine and taurine derivatives. Physiol. Rev. 48: 424-511.

Järvenpää, A.L., Räihä, N.C.R., Rassin, D.K. And Gaull. (1983). Feeding the low-birth-weight infant. I. Taurine and cholesterol supplementation of formula does not affect overall growth and metabolism. Pediatrics, 71: 171-178.

Joseph, M.H. y Mardsen, C.A. (1986). Aminoacids and small peptides. En: HPLC of small molecules: a practical approach (Eds: Rickwood, D. y Hames, B.D.) IRL Press E.U. pp. ...

Kataoka, H. y Ohnishi, N. (1986). Occurrence of taurine in plants. Agric. Biol. Chem. 7: 1887-1888.

Kocsis, J.J., Kostos, U.J. y Baskin, S.I. (1976). Taurine levels in the heart tissues of various species. En : Taurine (Eds. Huxtable R. y Barbeau A.) Raven Press, E.U., pp. 145-153.

Laidlaw, S.A., Shultz, T.D., Cechina, J.T. y Kopple, J. (1988). Plasma and urine taurine in vegans. Am. J. Clin. Nutr.

Lähdesmäki, P. (1986). Determination of taurine and other acidic aminoacids in plants. Phytochemistry 25: 2409-2411.

Lake, N. (1982). Is taurine an essential amino acid? Retina. 2: 261-263.

Lipton, J.M., Ticker, C.G. (1979) Central effect of taurine and its analogues on fever caused by intravenous leukocytic pyrogen in the rabbit. J. Physiol. 287: 535-543.

Montenegro, J. (1987). Contenido de taurina en alimentos de origen vegetal y animal. Tesis Profesional. Facultad de Ciencias, U.N.A.M.

Neuringer, M., Sturman J.A., Wen, G.Y. y Wisniewski, H.M. (1985). Dietary taurine is necessary for normal retinal development in monkeys. En: Taurine: Biological Actions and Clinical Perspectives. (Eds. Oja, S., Ahtee, L., Kontro, P., Paasonen, M. K.). Alan R. Liss Inc. E.U. pp 53-62.

Neuringer, M., Imaki, H., Sturman, J.A., Moretz, R. y Wisniewski, H.M. (1987). Abnormal visual acuity and retinal morphology in Rhesus monkeys fed a taurine-free diet during the first three postnatal months. En: The Biology of Taurine (Eds. Huxtable, R.J., Franconi, F. y Giotti, A.) pp. 125-135, Plenum, E.U.

Neuringer, M. y Sturman, J.A. (1987). Visual acuity loss in Rhesus monkey infants fed a taurine-free human infant formula. J. Neurosci. Res. 18:597-601.

Pasantes-Morales, H., Klethi, J., Ledig, M. y Mandel, P. (1972). Free amino acids in chicken and rat retina. Brain Res. 41 :494-497.

Pasantes-Morales, H. (1981). Estudio clínico sobre el efecto de la taurina en epilépticos incontrolables. Rev. Inv. Clin. 33: 373-378.

Pasantes-Morales, H., Quesada, O., Huxtable, R.J. y Cárabez, A. (1983). Effect of taurine transport antagonists guanidinoethane sulphonate and B-alanina on the morphology of the rat retina. J. Neurosci. Res. 9: 135-144.

Pasantes-Morales, H. y Cruz, C. (1985). Taurine: a Physiological stabilizer of photoreceptor membranes. Oja, S., Ahtel, L., Kontro, P., Paasonen, M. En: Taurine Biological Actions and Clinical Perspectives. Alan R. Liss. E.U.pp. 371-381.

Pasantes-Morales, H., López-Escalera, R. y Morán, J. (1987). Taurine and zinc in nutrition and cellular development. En: Current topics in nutrition and diseases: basic and clinical aspects of nutrition and brain development. (Eds. Rassin D., Haber B. y Drujan B.) Alan R. Liss Inc., E.U. pp. 217-243.

Pasantes-Morales, H., Quesada, D., Alcocer, L. y Sánchez Olea R. (1989). Taurine content in foods. Nutrition Reports International 40: 793-801.

Pasantes-Morales, H. y Martín del Río, R. (1990). Taurine and mechanisms of cell volume regulation. En: Taurine: Functional Neurochemistry, Physiology and Cardiology (Eds. Pasantes-Morales, H., Martín D., Shain W. y Martín del Río R.) Willey-Liss, Inc., E.U. pp. 317-328.

Rassin, D.K., Sturman, J.A. y Gaul, G.E. (1978). Taurine and other free aminoacids in milk of man and other mammals. Early Hum. Dev. 2: 1-13.

Rassin, D.K., Gaul, G.E., Järvenpää, A.L. y Räihä, N.C.R. (1983). Feeding the low-birth-weight infant. II. Effects of taurine and cholesterol supplementation on aminoacid and cholesterol. Pediatrics 71: 179-186.

Read, W.O. y Welty, J.D. (1963). Effect of taurine on epinephrine and digoxin-induced irregularities on dog heart. J. Pharmacol. Exp. Therap 139: 283-289.

Rigo, J. y Santerre, J. (1977). Is taurine essential for the neonates? Biol. Neonate. 32: 73-76.

Roe, D.A. y Weston, M.O. (1965). Potential significance of free taurine in the diet. Nature 205: 287-288.

Salceda, R., Cárabez, A., Pacheco, P. y Pasantes-Morales, H. (1979). Taurine levels, uptake and synthesizing enzyme activities in degenerated rat retinas. Exp. Eye. Res. 28: 137-146.

Sbabaro, V. (1974). Electroclinical effects of taurine in some epileptic patients. Preliminary results. Acta Neurol. 29: 33-37.

Schmidt, S.Y., Berson, E.L., Watson, G. y Huang, C. (1977). Retinal degeneration in cats fed casein: III taurine deficiency and ERG amplitudes. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 16: 673-678.

Segal, S., Thier, S.O. (1973). Renal handling of aminoacids. En: Handbook of physiology renal. Eds: Orloff J. y Berliner, R.W. American Physiology Society. E.U. pp. 653-676.

Simons, S.S. y Johnson, D.F. (1976). The structure of the fluorescent adduct formed in the reaction of o-phthalaldehyde and thiols with amines. J. Am. Chem. Soc. 98: 7098-7099.

Spaeth, D.G. y Schneider, D.L. (1974). Taurine synthesis, concentration and bili-salt conjugation in rat, guinea pig and rabbit. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 147: 855-858.

Stuart, J.D. y Hill, D.W. (1984). O-phthalaldehyde derivative of taurine. En: Handbook of HPLC for the separation of amino acids, peptides, and proteins (Ed. Handcock, W.S.) CRC Press. E. U. 1: 313-323.

Sturman, J.A. (1973). Taurine pool sizes in the rat: effect of vitamin B-6 deficiency and taurine diet. J. Nutr. 103: 1566-1580.

Sturman, J.A. y Hayes, H.C. (1980). The biology of taurine in nutrition and development. En: Advances in Nutritional Research Plenum. E. U. 3: 231-299.

Sturman, J.A. (1983). Taurine in nutrition research. En: Sulfur Aminoacids Biochemical and Clinical Aspects. Liss E. U. pp. 113-124.

Sturman, J.A., Wen, J.Y., Wisniewski, H.M. y Neuringer, M.D. (1984). Retinal degeneration in primates raised on a synthetic human infant formula. Int. J. Devel. Neurosci. 2: 121-126.

Sturman, J.A., Gargaro A.D., Messing, J.M. e Imaki, H. (1985a). Feline maternal taurine deficiency: effect on mother and offspring. J. Nutr. 116: 655-667.

Sturman, J.A., Moretz, R.C., French, J.H. y Wisniewski, H.M. (1985b). Taurine deficiency in developing cat: persistence of the cerebellar external granule cell layer. J. Neurosc. Res. 13: 405-416.

Sturman, J.A., Palackal, T., Imaki, H., Moretz, R.C., French, J. y Wisniewski, H.M. (1987). Nutritional taurine deficiency and feline pregnancy and outcome. En: The biology of taurine. (Eds. Huxtable, R.J., Franconi, F. y Giotti, A.) Plenum, E.U. pp. 113-124.

Sturman, J.A., Messing, J.M., Rossi, S.S., Hofmann, A.F. and Neuringer, M.D. (1988). Tissue taurine content and conjugated bile acid composition of Rhesus monkey infants fed a human infant soy-protein formula with or without taurine supplementation for 3 months. Neurochem. Res. 13: 311-316.

Sturman, J.A. (1990). Taurine deficiency. En: Taurine: Functional Neurochemistry, Physiology and Cardiology (Eds. Pasantes-Morales, H., Martin, D.L., Shain, W. y Martín del Río, R.) Wiley Liss, E.U. pp. 385-395.

Solis, J., Herranz, A., Herreras, U., Lerma, J., Martín del Río, R. (1988). Does taurine act as an osmoregulatory substance in the rat brain? Neurosci. Lett. 91: 53-58.

Sumizu, K. (1962). Oxidation of hypotaurine in rat liver. Biochim. Biophys. Acta 63: 210-212.

Thurston, J. Hanhart, R.E., Naccarato, E.F. (1981). Taurine: possible role in osmotic regulation of mammalian heart. Science 214: 1373-1374.

Tiedman, F. y Gmelin, L. (1827). Einige neue bestandtheile der galle des ochtsen. Ann. Physik. Chem. 9: 326-337.

Tyson, J.E., Lasky, R. y Flood, D. (1989). Randomized trial of taurine supplementation for infants 1300 grams birth weight: Effect on auditory brainstem-evoked responses. Pediatrics. 83:406-415.

van Gelder, N.M., Sherwin, A.L. y Rasmussen, T. (1972). Aminoacid content of epileptogenic human brain focal versus surrounding regions. Brain Res. 40: 385-393.

Vinton, N., Lidlaw, S.A., Ament, M. y Kopple, J.D. (1985). Plasma and platelet taurine concentrations in children receiving home total parenteral nutrition and healthy children. Am. J. Clin. Nutr. 41: 838...

Vinton, N., Laidlaw, S.A., Ament, M. y Kopple, J.D. (1986). Taurine concentrations in plasma and blood cells of patients undergoing long-term parenteral nutrition. Am. J. Clin. Nutr. 44: 398-404.

Vinton, N., Laidlaw, S.A., Ament, M.E. y Kopple, J.D. (1987). Taurine concentrations in plasma, blood cells and urine of children undergoing long-term total parenteral nutrition. Ped. Res. 21: 399-403.

Vislie, T. (1983). Cell volume regulation in fish heart ventricles with special reference to taurine. Comp. Biochem. Physiol. 764: 507-514.

Wade, J.V., Olson, J.P., Samson, F.E., Nelson, S.R. y Paldernik, T.L. (1988). A possible role for taurine in osmoregulation within the brain. J. Neurochem.....

Welty, J.D. y Read, W.O. (1964). Studies of some cardiac effects of taurine. J. Pharmacol. Exp. Ther. 144: 110-115.

Wen, J.Y., Sturman, J.A., Wisniewski, H.M., Lidsky, A.A. Cornwell, A.C. y Hayes, K.C. (1979). Tapetum desorganization in taurine-depleted cats. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 18: 1201-1206.

Wright, C.E., Tallan, H.H. y Lin, Y.Y. (1986). Taurine: Biological update. Ann. Rev. Biochem. 55: 427-453.