

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**

**FACULTAD DE QUIMICA**

**Medición de Lisina Disponible en Materias Primas  
y Concentrados Protéicos**

**T E S I S**  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
**Q U I M I C O**  
P R E S E N T A  
**MARIA MERCEDES RODRIGUEZ FUENTES**

**MEXICO**

**1972**

**8**

**0**

**0**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



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

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

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

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

A mis padres:

Antonia F. de Rodríguez Miramontes

Jesús Rodríguez Miramontes.

A mis hermanos:

Marisa y Jesús.

A mis maestros y amigos.

## SINODALES

<b>Presidente:</b>	<b>Enrique García Galeano</b>
<b>Vocal:</b>	<b>Angela Sotelo López</b>
<b>Secretario:</b>	<b>Javier Pérez Villaseñor</b>
<b>1er. Suplente:</b>	<b>Alfredo Echegaray Aleman</b>
<b>2do. Suplente:</b>	<b>Enrique A. Sánchez Saloma</b>

**Lugar donde se desarrolló la tesis: Departamento de Investigación Científica, División de Nutrición, I.M.S.S., Centro Médico Nacional**

**Director de Tesis: Angela Sotelo López**

**Nombre del Sustentante: María Mercedes Rodríguez Fuentes**

## AGRADECIMIENTOS

A la Q.F.B. y M en Sc. Angela Sotelo L. por su valiosa ayuda en mi formación profesional.

Al Departamento de Investigación Científica I.M.S.S., por las facilidades para la realización de este trabajo.

A la Universidad Nacional Autónoma de México

## CAPITULOS

INTRODUCCION

GENERALIDADES

Fuentes Principales de Proteínas

Medición de Aminoácidos

Disponibilidad de los Aminoácidos

MATERIAL Y METODOS

RESULTADOS

DISCUSION Y CONCLUSIONES

## INTRODUCCION

El problema de la alimentación en la población mundial ha sido el tema de muchas publicaciones, simposios y conferencias en los últimos años.

La F.A.O. ha estimado que de 300-500 millones de gentes padecen hambre y que 1500 millones sufren diferentes grados de desnutrición.

Los aspectos políticos, económicos y socioculturales son inseparables del problema nutricional, y contribuyen a formar un círculo vicioso teniendo como consecuencias limitaciones en la actividad física y mental.

México ha realizado un esfuerzo para una mayor producción agrícola y de alimentos en los últimos 40 años, y con ello ha contribuido a disminuir significativamente la mortalidad infantil y a prolongar la vida humana.

Durante los últimos años se ha observado un notable aumento en la producción de alimentos, especialmente cereales y granos que son la base de la alimentación mexicana.

Conocer el contenido de lisina en los alimentos es de gran importancía por ser este aminoácido el limitante en cereales que es la base de la alimentación de grandes grupos de población de pocos recursos.

Por otro lado, la lisina es uno de los aminoácidos que más se ve afectado por el procesado o por la temperatura, haciendo que disminuya su disponibilidad por cambios químicos que ocurren durante el tratamiento.

El propósito de este trabajo era encontrar proteínas de alto valor nutricional en concentrados de diferente origen y que se encuentren disponibles en nuestro país tales como: Residuos de semillas oleaginosas a las que se les ha extraído el aceite, hojas, cereales en los que por métodos genéticos se ha aumentado su contenido de proteína o de algunos aminoácidos, concentrados proteicos de origen animal y vegetal procesados con el fin de ser utilizados en la alimentación humana o animal, algas, levaduras que crecen en petróleo, etc.

Se consideró interesante utilizar como indicador de presencia de aminoácidos esenciales la lisina disponible o sea la realmente utilizada por el organismo, este aminoácido junto con el triptofano son los dos primeros limitantes en la dieta mexicana.

## GENERALIDADES

Las publicaciones de la F.A.O. ( Food and Agriculture Organization ) han demostrado con datos cualitativos y cuantitativos la deficiencia de protefñas, así como el bajo índice alimentario que contemplan los países que tienen explosiones demográficas mayores a su producción ( ver tablas 1 y 2 ) (1)

Respecto a México, recientemente se publicaron en Industria y Comercio (2), los estudios realizados junto con el Instituto Nacional de la Nutrición, en que se muestra que en la mayoría de los productos ha habido un aumento significativo. Los más importantes se registraron en los productos más comunes en la alimentación del pueblo, tales como maíz, trigo, frijol y papa mismos que desafortunadamente son pobres nutricionalmente.

Los alimentos más ricos en valor nutritivo como la leche y la carne solo tuvieron incrementos moderados ( ver tabla 3 ).

En los últimos 12 años a pesar del aumento de producción en la - disponibilidad no ha habido un aumento paralelo ( ver tabla 4 ).

La disponibilidad para los habitantes del Distrito Federal con respecto al resto del país, es marcadamente diferente lo cual se advierte en la gráfica 1.

T A B L A I

CRECIMIENTO DE LA POBLACION MUNDIAL (2)

<u>PAISES</u>	<u>POBLACION 1965</u>		<u>POBLACION 1985 1 /</u>	
	millones	Porcentaje del total mundial	millones	Porcentaje del total mundial
AMERICA DEL NORTE	214	6	288	6
EUROPA OCCIDENTAL Y MERIDIONAL	378	11	444	9
U.R.S.S. Y EUROPA ORIENTAL	333	10	415	8
OTROS PAISES DESARROLLADOS	135	4	174	3
PAISES ASIATICOS DE PLANIFICACION ECONOMICA CENTRALIZADA	795	24	1190	24
AMERICA LATINA	244	7	422	9
AFRICA	249	8	415	8
CERCANO ORIENTE	111	3	190	4
ASIA Y LEJANO ORIENTE	896	27	1446	29
INDIA	483	14	755	15
TOTAL MUNDIAL	3355	100	4984	100

1/ Hipótesis máxima del crecimiento de la población (Variante media de las Naciones Unidas ).

T A B L A 2

AMERICA LATINA: CALORIAS Y CONTENIDO PROTEICO ESTIMADOS DE LOS  
SUMINISTROS NACIONALES MEDIOS DE ALIMENTOS POR HABITANTE

	Calorías				Total de Proteínas				Proteína Animal			
	Pre- Guerra	1960- 1962	1964- 1966	1969	Pre- Guerra	1960- 1962	1964- 1966	1969	Pre- Guerra	1960- 1962	1964- 1966	1969
	.....Número por día.....				.....Gramos por día.....							
Argentina.....	2 780	2 810	<sup>1</sup> 3 130	<sup>2</sup> 3 170	96,5	81,6	<sup>1</sup> 87,6	<sup>2</sup> 102,7	59,6	52,4	<sup>1</sup> 50,7	<sup>2</sup> 59,8
Bolivia.....	...	...	1 760	...	...	...	45,8	...	...	...	12,1	...
Brasil.....	2 190	<sup>3</sup> 2 460	2 540	<sup>4</sup> 2 540	63,8	<sup>3</sup> 60,0	63,9	<sup>4</sup> 63,0	27,9	<sup>3</sup> 19,9	22,4	<sup>4</sup> 21,8
Chile.....	2 250	...	2 520	...	69,6	...	65,4	...	21,4	...	25,2	...
Colombia.....	...	...	2 190	...	...	...	50,1	...	...	...	22,7	...
Costa Rica.....	...	...	2 230	...	...	...	56,3	...	...	...	24,2	...
República Dominicana...	...	...	2 080	...	...	...	45,7	...	...	...	17,4	...
Ecuador.....	...	...	1 850	...	...	...	46,7	...	...	...	16,2	...
El Salvador.....	...	...	1 880	...	...	...	47,0	...	...	...	14,1	...
Guatemala.....	...	...	1 950	...	...	...	49,2	...	...	...	11,9	...
Honduras.....	...	...	1 930	...	...	...	48,6	...	...	...	13,1	...
Jamaica.....	...	...	2 280	...	...	...	59,1	...	...	...	26,5	...
México.....	...	<sup>5</sup> 2 500	2 620	...	...	<sup>5</sup> 65,0	66,3	...	...	<sup>5</sup> 15,5	14,2	...
Nicaragua.....	...	...	2 250	...	...	...	60,7	...	...	...	19,8	...
Panamá.....	...	2 330	<sup>1</sup> 2 340	2 450	...	60,5	<sup>1</sup> 61,4	63,8	...	23,0	<sup>1</sup> 24,5	27,2
Paraguay.....	...	...	2 730	...	...	...	68,1	...	...	...	29,8	...
Perú.....	...	2 260	<sup>1</sup> 2 160	<sup>2</sup> 2 200	...	55,5	<sup>1</sup> 51,3	<sup>2</sup> 52,4	...	20,0	<sup>1</sup> 18,5	<sup>2</sup> 18,4
Surinam.....	...	1 920	<sup>1</sup> 2 170	<sup>6</sup> 2 350	...	47,0	<sup>1</sup> 51,4	<sup>6</sup> 61,9	...	17,4	17,2	<sup>6</sup> 25,6
Uruguay.....	...	...	3 020	...	...	...	105,0	...	...	...	71,8	...
Venezuela.....	...	2 300	<sup>1</sup> 2 390	<sup>7</sup> 2 490	...	58,7	<sup>1</sup> 63,6	<sup>7</sup> 65,9	...	23,0	<sup>1</sup> 26,3	<sup>7</sup> 26,4

<sup>1</sup> 1963-65.- <sup>2</sup> 1967.- <sup>3</sup> 1961-63.- <sup>4</sup> 1966-68.- <sup>5</sup> 1961-62.- <sup>6</sup> 1968.- <sup>7</sup> 1966

T A B L A 2

	Calorías				Total de Proteínas					Proteína Animal			
	Pre Guerra	1948 1950	1963 1965	1969	Pre Guerra	1948 1950	1963 1965	1966 1968	1969	Pre Guerra	1948 1950	1963 1965	1969
Estados Unidos	3 280	3 200	3 140	3 290	86.3	89.7	93.2	95.2	96.8	51.7	59.6	66.4	69.5

T A B L A 3

CAMBIOS EN LA DISPONIBILIDAD DE ALIMENTOS, CALORIAS Y PROTEINAS EN MEXICO  
( GRAMOS EN PESO NETO POR PERSONA Y POR DIA )

ALIMENTOS	1940	1945	1950	1955	1960	1965	1969
CEREALES	334.5	343.2	385.9	392.1	424.5	441.0	431
LEGUMINOSAS Y OLEAGINOSAS	27.5	33.4	37.0	50.3	58.3	65.0	55.0
RAICES FECULENTAS	13.1	14.9	14.1	15.0	19.1	17.5	18.0
VERDURAS	28.6	22.8	29.1	29.9	27.7	34.0	51.0
FRUTAS	93.2	96.6	103.5	98.5	114.6	130.2	124.0
CARNES	39.9	35.3	31.4	39.2	45.9	57.8	57.0
LECHE	222.5	223.3	209.0	213.3	268.9	278.5	244.3
PESCADOS Y MARISCOS	2.6	2.3	2.6	6.2	3.2	4.2	6.3
HUEVO	8.3	8.5	9.4	11.6	11.9	13.9	14.9
AZUCAR	59.8	62.0	61.9	74.4	84.0	89.5	98.9
GRASAS	17.7	19.1	17.0	16.8	16.8	17.9	17.8
CALORIAS	1991	2058	2166	2277	2522	2662	2619
PROTEINAS TOTALES	54.3	55.3	58.8	62.6	72.0	78.1	72.0
PROTEINAS ANIMALES	17.1	16.2	15.0	16.1	22.6	23.3	22.7

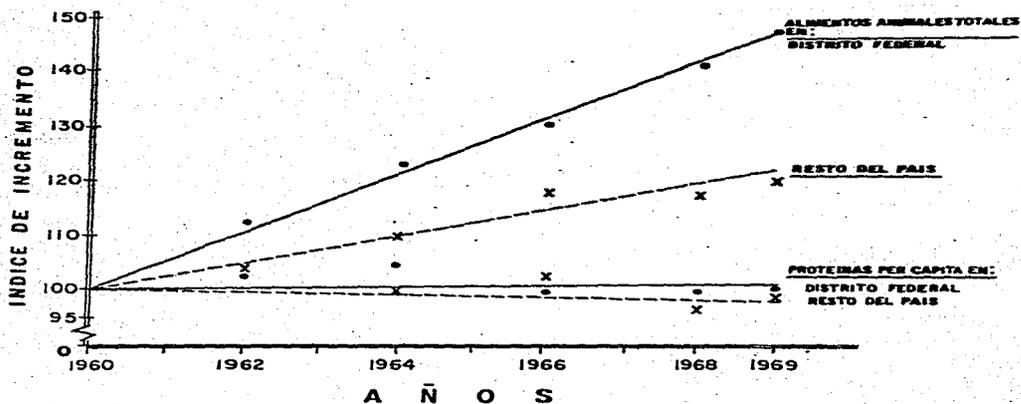
T A B L A 4

DISPONIBILIDAD DE CALORIAS Y PROTEINAS EN LOS ULTIMOS AÑOS  
( POR PERSONA Y POR DIA )

NUTRIMENTOS	1958	1959	1960	1961	1962	1963	1964	1965	1966	1967	1968	1969
CALORIAS	2 528	2 320	2 523	2 501	2 544	2 674	2 492	2 662	2 747	2 625	2 547	2 619
PROTEINAS	75.2	69.4	74.9	74.4	73.6	76.5	73.1	78.1	79.4	76.0	75.1	72.0
PROTEINAS ANIMALES	20.5	20.6	22.6	20.3	22.2	21.4	21.6	23.3	21.7	22.9	22.9	22.7

GRAFICA I

TENDENCIAS EN DISPONIBILIDADES DE ALIMENTOS Y DE PROTEINAS DE ORIGEN ANIMAL EN EL D.F. Y EN EL RESTO DEL PAIS.



## FUENTES PRINCIPALES DE PROTEINAS

Proteínas de origen animal. Las fuentes más abundantes de proteínas de origen animal están constituidas por los productos lácteos, las carnes, los huevos y el pescado. Las tres primeras están negadas a millones de personas en el mundo entero por causa de los altos costos o por la indisponibilidad de estos productos (3).

Estas proteínas, las de mayor valor biológico, son insuficientes inclusive para satisfacer la décima parte de la demanda mundial (ver tabla 5 ).

Proteínas de origen vegetal. De valor biológico francamente más bajo son las proteínas vegetales, como las del trigo, el maíz, el arroz y el frijol.

En muchas áreas del mundo los cereales y las leguminosas son la mayor fuente de proteínas, estas proteínas pueden contener todos los aminoácidos necesarios pero en cada una de ellas se encuentran uno o más de los aminoácidos esenciales en cantidades tan escasas que la proteína en su totalidad es de baja calidad cuando constituye la única fuente de aminoácidos en la alimentación.

Las proteínas de origen vegetal se caracterizan asimismo por un alto porcentaje de aminoácidos no esenciales, y por un mayor contenido

## T A B L A 5

DATOS COMPARATIVOS DEL CONSUMO ACTUAL DE PROTEINAS EN LOS PAISES DESARROLLADOS  
Y EN DESARROLLO Y PERSPECTIVAS DEL MISMO - CALCULADAS SOBRE LA BASE DE LA FAO. (2)

INDICE	PAISES DESARROLLADOS	PAISES EN DESARROLLO
<u>1961-1963</u>		
Consumo general de proteínas (en gramos por habitante por día).....	85.6	54.8
Proteínas animales (en gramos por habitante y por día).....	45.3	10.9
<u>1975</u>		
Demanda total de proteínas (en gramos por habitante y por día).....	89.4	61.3
Proteínas animales (en gramos, por habitante y por día).....	50.6	13.9
<u>1985</u>		
Demanda total de proteínas (en gramos por habitante y por día).....	92.4	67.1
Proteínas animales (en gramos por habitante y por día).....	54.6	17.5

Fuente: Organización de las Naciones Unidas para la agricultura y la alimentación - Productos Agrícolas Proyecciones para 1975 (CCP 67/3 - 1966), Vol. II, Cuadro B.

de nitrógeno no protéico, que las proteínas de origen animal. (4)

Está extensamente reconocida la necesidad de buscar proteínas de alta calidad entre las fuentes naturales principalmente de origen vegetal, para suplementar aquellos alimentos pobres en algunos aminoácidos esenciales. Esta suplementación se lleva a cabo en forma natural en la dieta diaria cuando se combinan proteínas de origen vegetal con las de origen animal (5).

Para esto un gran número de investigadores trata de encontrar proteínas de alto contenido en triptofano, lisina y metionina que son los aminoácidos esenciales que escasean en los cereales básicos en la alimentación.

Entre las posibles fuentes de estos aminoácidos se han estudiado proteínas obtenidas de microorganismos durante la última década. Los estudios microbiológicos y bioquímicos en relación con el petróleo y sus derivados, han tomado diversas orientaciones basadas en la potencialidad biosintética de los microorganismos (6).

En los últimos años las proteínas derivadas de organismos unicelulares, han sido objeto de numerosos estudios todos los cuales se orientan a su utilización en la alimentación humana y animal (7).

También se han estudiado tortas residuales de la extracción de acei-

tes de oleaginosas, pastas, algas, etc.

En el Lago de Texcoco crece naturalmente una alga microscópica, spirulina, la cual es una fuente de proteínas para consumo humano y es de buena calidad nutricional (8).

Por otro lado grupos de agrónomos realizan estudios genéticos en las variedades de cereales a fin de incrementar el contenido de proteína y aminoácidos esenciales como ha ocurrido en las variedades de trigo y maíz en que se ha logrado aumentar el contenido de proteína total y lisina en algunas variedades (9) (10) (11).

Las proteínas vegetales incompletas deben suplementarse con otros alimentos que suministren los aminoácidos faltantes a fin de elevar su calidad nutricional, es necesario por lo tanto que esta suplementación se haga con concentrados protéicos no utilizados hasta ahora, ya que presentan inconvenientes en cuanto a sabor, olor, toxicidad, etc., que deben ser bien estudiados.

El hacer la medición de proteína sólo sirve para conocer la cantidad de proteína en una muestra pero no la calidad nutricional de ella, pues no existe una relación directa entre la calidad nutricional de una proteína y el contenido de proteína cruda.

Debido ha esto se han ideado métodos para medir principalmente la

calidad de las proteínas, teniendo como base los aminoácidos esenciales que la constituyen independientemente de la digestibilidad del alimento que la contiene.

#### MEDICION DE AMINOACIDOS

Existe una gran variedad de métodos para medir la calidad nutricional de una proteína, así tenemos los métodos biológicos con animales de laboratorio, microbiológicos que son de los más antiguos, métodos químicos como son cromatografía y método de transporte eléctrico o electroforético realizando todos ellos una valoración cualitativa y/o cuantitativa.

**Métodos Biológicos.** Se basan fundamentalmente en ver la respuesta en animales de laboratorio a una alimentación en que la fuente de proteína solamente es la que tratamos de probar.

**Métodos Microbiológicos.** Son importantes en la determinación cuantitativa de aminoácidos, y se basa en el uso de microorganismos que requieren de ciertos aminoácidos para su crecimiento. Se prepara un medio de cultivo el cual contiene todas las sustancias esenciales, excepto el aminoácido que se va a determinar. Cuando este aminoácido es adicionado dentro de condiciones adecuadas, el grado de crecimiento es proporcional a la cantidad de aminoácido (12)(13).

**Métodos Químicos.** Ciertas reacciones químicas de aminoácidos las

cuales son de importancia se consideran aquí. La reacción de aminoácidos con ninhidrina es de considerable valor en la detección de aminoácidos por cromatografía en papel y en columna. El color producido por la reacción de ninhidrina con el grupo  $\alpha$ -amino es proporcional a la concentración de aminoácidos presentes.

Métodos Cromatográficos.- Dentro de estos métodos tenemos la cromatografía en papel, en columna y últimamente el autoanizador que utiliza resinas de intercambio iónico.

La cromatografía en papel depende de la distribución líquido-líquido de los componentes es decir la separación se basa en las diferencias de solubilidad.

El método de intercambio iónico se basa en la unión de fuerza electrostática de los grupos cargados, a el soporte del medio, y el grado de separación es relacionado al respectivo pK de cada aminoácido. (14)

Método Electroforético.- El principio del método es que a pH 5.5 los aminoácidos ácidos existen como iones negativos y los aminoácidos básicos como iones positivos donde la carga neta positiva o negativa presenta diferente migración con el paso de la corriente eléctrica en una solución.

## DISPONIBILIDAD DE LOS AMINOACIDOS

Actualmente se haya bien demostrado que el valor nutritivo de una protefna calculado en base a su composición de aminoácidos no siempre coincide con el determinado por los métodos descritos anteriormente, esta diferencia se acentua en el caso de protefñas que han sido sometidas ha determinados procesos tecnológicos que disminuyen el grado de aprovechamiento de algunos de sus aminoácidos esenciales y a la digestibilidad de los alimentos que los contienen.

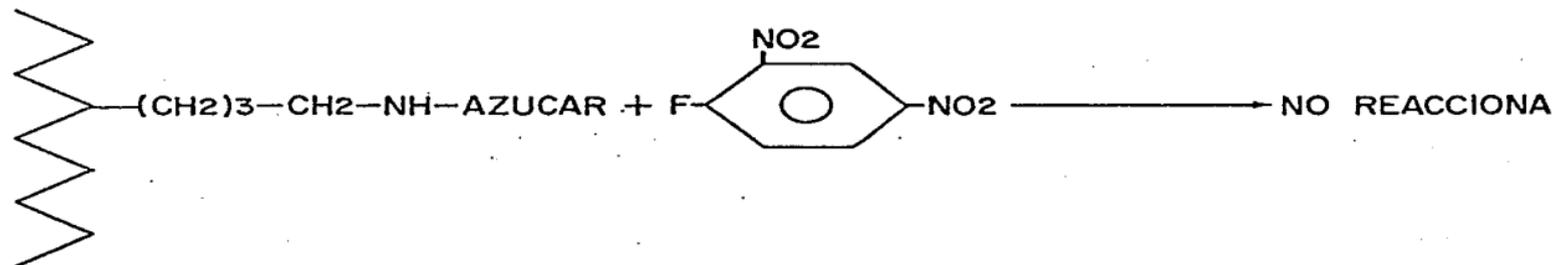
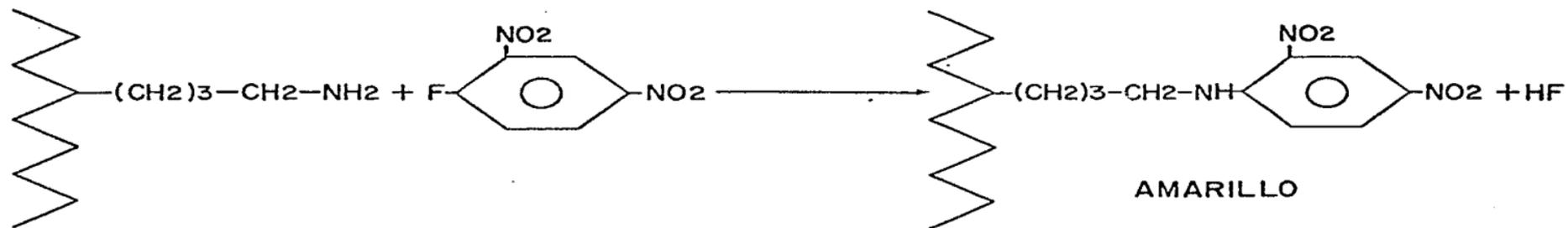
Varias son las teorias que se han propuesto para explicar este hecho, se han estudiado los factores que influyen sobre la disponibilidad de los aminoácidos y en forma especial la reacción que afecta a la lisina cuando se haya en determinadas condiciones fisicoquímicas en presencia de glúcidos o lípidos.

Como es sabido el grupo E-amino de este aminoácido reacciona con los grupos carbonilos reductores formando un complejo que no es atacado por las enzimas digestivas ( Reacción de Maillard ).

Esta reacción al parecer es la responsable del menor grado de aprovechamiento de la lisina observable en algunos alimentos procesados, menos esclarecidos se hayan los mecanismos por los cuales es afectada la disponibilidad de otros aminoácidos (15).

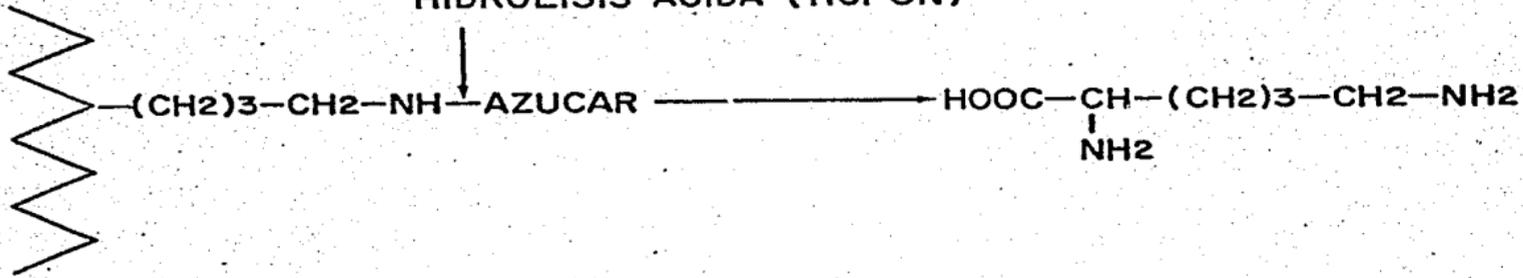
Se han propuesto diversos métodos para determinar los grupos E-

REACCION DEL FLUOR DINITROBENCENO CON EL E-NH2 DE LISINA

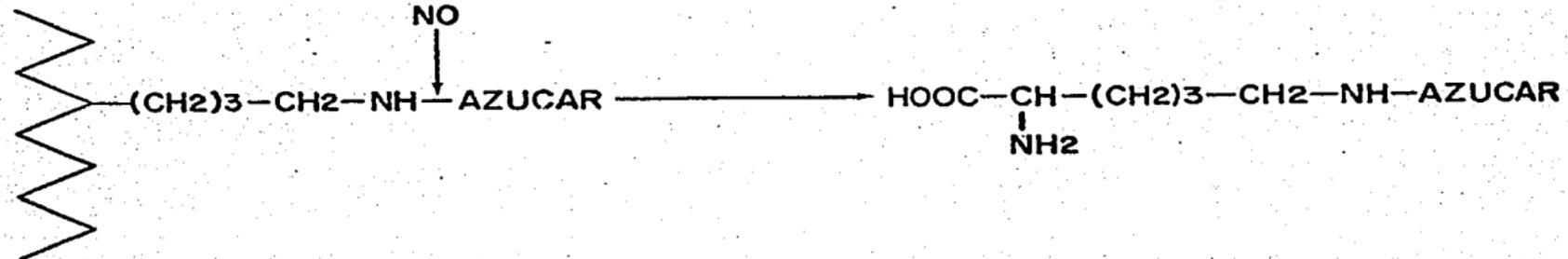


# HIDROLISIS DE LA PROTEINA

HIDROLISIS ACIDA (HCl 6N)



HIDROLISIS ENZIMATICA



amino libres de la lisina (lisina disponible) en alimentos de origen animal y vegetal.

Los métodos más aceptados son aquellos que emplean el reactivo 1-fluor 2,4-dinitro benceno (FDNB).

El pionero en el uso de FDNB fue Sanger que en 1945 publicó la metodología para la determinación de los grupos amino libres en la insulina, mediante este reactivo (16).

Cinco años más tarde, Lea y Hannan reportaron el uso de dinitro-fenilación de proteínas y estudiaron la reducción de grupos amino libres al ser tratados con glucosa (17).

En 1957 Carpenter y Ellinger determinaron la cantidad de lisina - disponible usando 1-fluor 2,4-dinitro benceno que lo hicieron reaccionar con los grupos E-amino libres y el derivado colorido obtenido, lo midieron directamente utilizando un colorímetro (18,19).

Esta metodología la realizaron en una gran variedad de muestras de origen animal y concluyeron que el procedimiento seguido no es aplicable para muestras de origen vegetal, esta conclusión se debe a que en muestras de origen vegetal, al hacerlas reaccionar con FDNB se producen relativas cantidades de 2,4-dinitro fenol que interfiere la determinación colorimétrica del derivado E-dinitro fenil lisina.

Esta dificultad fue superada tomando la propiedad de que la absorción del 2,4-dinitro fenol es dependiente del pH, y así tenemos que en un medio básico la máxima absorción es a 360 mu y cuando la solución es acidificada la máxima absorción es a 260 mu.

En cambio para el derivado de la lisina, no es valido lo anterior pues no es dependiente del pH.

Aprovechando las diferencias de absorción del 2,4-dinitro fenol en medio ácido y alcalino, Conkerton y Frampton (20), lograron corregir la cantidad de dinitro fenol presente en la proteína hidrolizada.

Este procedimiento es aplicable a proteína de origen animal así como vegetal.

Ellos también estudiaron la acción del gopipol sobre los grupos E-amino libres de lisina y notaron que ellos disminuían por la presencia del gopipol en las mismas condiciones que para la preparación del derivado.

En 1959 Beliga, Bayliss y Lyman (21), publicaron un trabajo en el cual describen el tratamiento de las muestras de semillas de algodón con FDNB utilizando una adaptación del método de Sanger y encontraron que cuando lisina pura es tratada con FDNB se obtiene un producto di-dinitro fenil lisina en lugar del E-dinitro fenil lisina. También observaron que el derivado de la lisina es lábil a la luz

y sufre alteraciones en la coloración.

21

Posteriormente se han realizado estudios observando cuales factores afectan principalmente la disponibilidad de la lisina (22).

Se han desarrollado técnicas por medio de columnas de intercambio iónico y se han logrado descartar muchas de las fuentes de error - producidas por otros compuestos amarillos (23), (24).

Para el estudio que se realizó en esta tesis, la metodología propuesta por Bruno y Carpenter fue tomada como referencia para la determinación de lisina disponible en concentrados protéicos.

Se introduce el reactivo metil-cloroformiato que hace que el derivado E-dinitro fenil lisina nos de un producto soluble en eter.

La diferencia de intensidad de color del hidrolizado antes y después de la reacción con metil-cloroformiato y extracción con eter se tomó como una medida de lisina disponible (25).

## MATERIAL Y METODOS

Para este estudio se recolectaron las muestras de distintas fábricas y centros de investigación del país ( ver tabla 6 ).

Las muestras se clasificaron de acuerdo a su origen en los siguientes grupos:

- 1.- Concentrados protéicos de origen animal. Harina de pescado, caseína, albumina de huevo, etc.
- 2.- Residuos de la extracción de plantas oleaginosas obtenidas como subproductos en la industria aceitera. Pastas de algodón, ajonjolí, etc.
- 3.- Harinas de algunos cereales y hojas utilizadas principalmente en la alimentación animal. Harina de alfalfa para consumo del hombre. Harina de maíz.
- 4.- Micelios residuales obtenidos en la industria de antibióticos, algas que crecen en algunos lagos del país, levaduras que crecen en petróleo, etc.

### DETERMINACION DE HUMEDAD

#### MATERIAL

Pesa filtros que previamente fueron puestos a peso constante.

Estufa de vacío Thelco modelo 19

#### TECNICA

Se pesan aproximadamente 2 g de la muestra y se ponen en la estufa con vacío a una temperatura de 60°C durante tres horas, al fina-

FUENTES DE RECOLECCION DE LAS MUESTRAS  
ANALIZADAS

INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES AGRICOLAS (CHAPINGO)

INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL

CONASUPO

FABRICAS DE ALIMENTOS

FABRICAS DE ALIMENTOS PARA ANIMALES

FABRICAS DE ANTIBIOTICOS

PLANTA EXTRACTORA DEL LAGO DE TEXCOCO (ALGAS)

lizar este tiempo se dejan enfriar en un desecador y se pesan.

#### DETERMINACION DE PROTEINAS

##### MATERIAL

Aparato de Kjeldahl Labconco, que es una combinación de digestión y destilación de la muestra.

Matraces Kjeldahl de 500 ml.

##### REACTIVOS

Mezcla digestiva la cual se prepara de la siguiente manera:

300 ml de ácido sulfúrico concentrado

100 ml de ácido fosfórico concentrado

3 g de sulfato de cobre

Mezcla de Selenio Merck

Acido bórico con indicadores en las siguientes proporciones:

10 g de ácido bórico

20 ml de solución alcohólica de 33 mg de verde de bromo cresol y

66 mg de rojo de metilo.

70 ml de solución alcohólica de fenoftaleína al 0.1%

Todo lo anterior se afora a 2000 ml con agua destilada

Hidróxido de sodio al 60%

Acido clorhídrico 0.1 N

##### TECNICA

Se pesan aproximadamente 0.5 g de la muestra la cual se coloca en un matraz Kjeldahl de 500 ml, se pesan 5 g de la mezcla de sele-

nió y se adiciona al matraz, al igual que piedras de ebullición para tener controlada la ebullición. Se agregan 20 ml de mezcla digestiva y se coloca en el aparato de digestión durante un tiempo de 2 horas aproximadamente hasta que el líquido este transparente y no haya desprendimiento de vapores.

Al matraz se le agregan 200 ml de agua destilada, procurando limpiar las paredes.

En matraces Erlenmeyer de 500 ml se colocan 150 ml de la solución de ácido bórico con los indicadores y se colocan en la parte terminal del aparato de destilación.

Al matraz que contiene la muestra se le adicionan 50 ml de hidróxido de sodio al 60%, la cual es enfriada previamente para evitar un desprendimiento de amoniaco.

Se coloca el matraz en el aparato de destilación y se deja destilar aproximadamente 20 minutos.

Al finalizar los 20 minutos de destilación, la muestra se titula para obtener la cantidad de nitrógeno protéico, la titulación se efectua con ácido clorhídrico 0.1 N.

CALCULOS

$$\frac{\text{ml. utilizados en ( la muestra )} - \text{ml. utilizados en ( el blanco )} \times N \text{ HCL} \times \text{Meq. N}_2 \times 100}{\text{Peso de la muestra}}$$

% N<sub>2</sub> -----

$$\text{Proteínas} \quad \% \text{ de N}_2 \times 6.25$$

#### DETERMINACION DE LISINA DISPONIBLE

##### MATERIAL

Agitadores magnéticos

Balanza analítica

Baño de arena

Espectrofotómetro Coleman Jr

Matraces de fondo redondo y juntas esmeriladas de 250 ml

Matraces volumétricos de 250 ml

Parrilla eléctrica

Pipetas graduadas

Potenciómetro Beckman de escala expandida

Refrigerantes

Vasos de precipitado de 80 ml

##### REACTIVOS

Acido clorhídrico 8.1 N

Acido clorhídrico concentrado

Buffer de pH 8.5 de carbonato de sodio al 8% y carbonato ácido de sodio al 8%

Carbonato de sodio al 8%

Eter etílico

Etanol absoluto

ε -dinitro fenil lisina. HCL estandar Sigma

1-fluor 2,4-dinitro benceno (FDNB) Sigma

Solución alcohólica de fenoftaleína

#### TECNICA

Preparación del derivado. Se suspende una cantidad de la muestra en una solución de carbonato de sodio al 3% con agitación suave y se deja reposar 10 minutos. Aproximadamente 0.5 g de muestra con 30-50% de proteína.

Durante este tiempo el reactivo se prepara de la siguiente manera: 0.3 ml de FDNB se solubilizan en 12 ml de etanol y se lleva a un volumen, junto con la muestra, de 100 ml. La muestra tiene una agitación suave durante 2 horas.

Hidrólisis de E-dinitro fenil lisina. Se evapora el etanol y a la muestra se le agregan 50 ml de ácido clorhídrico 8.1N y se hierve a reflujo por espacio de 16 horas en un baño de arena a una temperatura de 130-150°C.

El hidrolizado se enfría rápidamente en un recipiente con hielo, se filtra, el filtro se lava constantemente con agua destilada, el filtra-

do y las aguas de lavado se llevan a un volumen de 250 ml.

Determinación de E-dinitro fenil lisina. Se toma una alicuota de 10 ml del hidrolizado y se coloca en un embudo de separación, se lava energicamente en eter varias veces hasta que la capa eterea no sea colorida, el exceso de eter se evapora en un baño maría.

De esta manera teniendo el derivado libre de exceso del reactivo, se toman tres alicuotas de 2 ml cada una.

1a. Alicuota. Los 2 ml se llevan a un volumen de 10 ml con agua destilada y se le asigna el número 1.

2a. Alicuota. Igual que el paso anterior el volumen final son 10 ml se agregan 3 gotas de fenoftaleína y se titula con hidróxido de sodio 2N se anota la cantidad de ml utilizados y se descarta esta muestra.

3a. Alicuota. Se agrega igual cantidad de hidróxido de sodio que para la 2a. alicuota se ajusta el pH en un rango de 8.2-9.6 con solución amortiguadora de carbonato ácido de sodio al 8% y carbonato de sodio al 8% de pH 8.5 utilizando para ello un potenciómetro Beckman. A continuación se le agrega 0.05 ml de metil cloroformato y se deja reposar 10 minutos.

Se adiciona 0.75 ml de ácido clorhídrico concentrado y se pasa a

un embudo de separación. Se hacen lavados con 10 ml de eter cada vez hasta que el eter no tenga color, tres lavados es suficiente, los restos de eter se evaporan utilizando un baño maría, a esta al cuota se le llama 1'.

Finalmente se lee la densidad óptica en los tubos 1 y 1' utilizando para ello un espectrofotómetro Coleman Jr. a una longitud de onda de 435 mu.

#### CALCULOS

$$\frac{(\text{D.O. Muestra 1-D.O. muestra 1'}) \text{ Conc. del Factor}}{\text{(D.O. del estandar ) estandar de dilución} \times 100} \times 100$$

-----x-----  
u moles -----  
Peso de la muestra

Para los cálculos anteriores se preparó una curva estandar de la siguiente manera:

#### CURVA ESTANDAR

Se pesan 17.7 mg de E-dinitro fenil lisina. HCL y se aforan a 100 ml con agua destilada, de esta solución se toma una alicuota de 10 ml y se lleva a un volumen de 100 ml. De esta solución que tiene una concentración de 0.05 umoles por mililitros, se toman 1 ml, 2 ml, 3 ml hasta 10 ml y se lleva a un volumen final de 10 ml con agua destilada. Las lecturas se hacen a 435 um.

## RESULTADOS

En la tabla 7 se muestra el contenido de humedad y proteínas presentes en las muestras estudiadas.

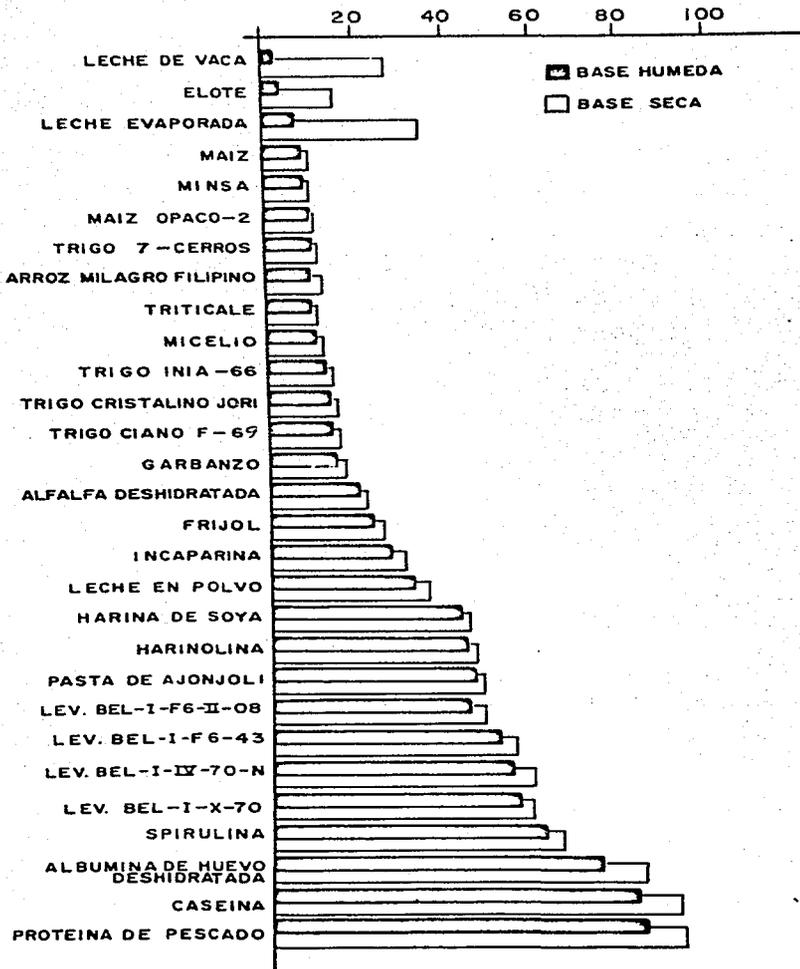
En gráfica No. 2 se presentan los resultados de proteína que contienen las muestras, en base seca y base húmeda.

Los resultados obtenidos en la determinación de lisina disponible se muestran en la gráfica No. 3

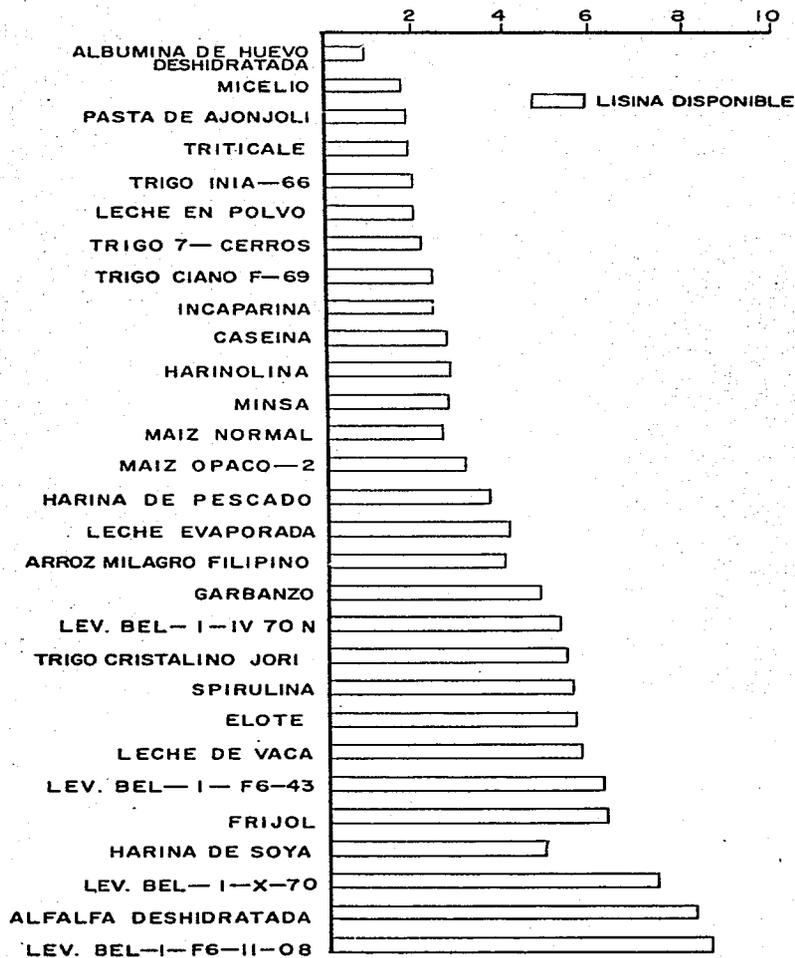
Y en la tabla No. 8 se puede observar estas cantidades representadas en base húmeda y base seca.

MUESTRA	% HUMEDAD	% PROTEINAS	
		BASE HUMEDA	BASE SECA
CASEINA	9.60	84.00	92.92
LECHE DE VACA	89.60	2.90	27.88
LECHE EVAPORADA	80.80	6.87	35.78
LECHE EN POLVO	6.50	33.75	36.09
ALBUMINA DE HUEVO			
DESHIDRATADA	11.60	75.62	85.54
FRIJOL	11.09	23.44	26.36
HARINA DE SOYA	2.90	44.06	45.37
TRIGO CRISTALINO JORI	10.40	14.37	16.04
TRIGO 7 CERROS	11.70	10.44	11.82
TRIGO INIA 66	8.20	13.75	14.98
TRIGO CIANO F-67	11.20	14.37	16.18
TRITICALE	10.50	10.56	11.81
ARROZ MILAGRO FILIPINO	11.80	10.44	11.83
MAIZ	10.79	8.48	9.50
MAIZ OPACO-2	9.80	10.10	11.20
MINSA (HARINA DE MAIZ NIXTAMALIZADA)			
	10.72	8.78	9.83
ELOTE	77.80	3.51	15.81
GARBANZO	12.57	15.45	17.31
INCAPARINA	10.04	28.12	31.25
HARINA DE PESCADO	8.90	85.50	94.00
HARINOLINA I	4.20	45.00	46.97
ALFALFA DESHIDRATADA	4.80	20.62	21.65
SPIRULINA DESHIDRATADA	6.60	62.50	65.65
PASTA DE AJONJOLI	5.77	46.25	49.08
LEVADURA BEL-1-F6-11-08	8.10	45.00	48.90
LEVADURA BEL-1-F-6-43	6.70	52.50	56.27
LEVADURA BEL-1-IV-70N	7.50	55.62	60.13
LEVADURA BEL-1-X-70	4.30	56.87	59.42
MICELIO	3.60	11.87	12.31

PROTEINA (g/100g DE MUESTRA)



GRAFICA 3. LISINA (g/16 gN)



T A B L A 8

MUESTRAS	Gr. LYS/100	Gr. Muestra Base Húmeda	Base Seca
CASEINA	2.354		2.604
LECHE EN POLVO	0.723		0.773
LECHE EVAPORADA	0.283		1.483
LECHE DE VACA	0.168		1.614
ALBUMINA DE HUEVO DESHIDRATADA	0.708		0.801
FRIJOL	1.482		1.667
HARINA DE SOYA	2.146		2.209
TRIGO CRISTALINO JORI	0.788		0.880
TRIGO 7 CERROS	0.244		0.276
TRIGO INIA 66	0.292		0.318
TRIGO CIANO F-69	0.365		0.411
* TRITICALE	0.204		0.228
ARROZ MILAGRO FILIPINO	0.041		0.460
MAIZ	0.228		0.250
MAIZ OPACO-2	0.328		0.364
MINSA (HARINA DE MAIZ NIXTAMALIZADA )	0.262		0.294
ELOTE	0.198		0.894
GARBANZO	0.762		0.852
INCAPARINA	0.723		0.803
HARINA DE PESCADO	3.278		3.598
HARINOLINA	1.343		1.402
ALFALFA DESHIDRATADA	1.694		1.766
SPIRULINA DESHIDRATADA	3.504		3.752
PASTA DE AJONJOLI	0.891		0.945
LEVADURA BEL-1-IV-70N	2.986		3.228
LEVADURA BEL-1-F6-43	3.285		3.521
LEVADURA BEL-1-X-70	4.190		4.378
LEVADURA BEL-1-F6-11-08	3.832		4.170
MICELIO	0.212		0.220

\* CRUZA DE TRIGO Y CENTENO

## DISCUSION Y CONCLUSIONES

En este estudio se pudo observar que aquellos alimentos que se consumen en mayor cantidad como son: maíz, trigo, arroz, frijol y garbanzo mostraron tener las más bajas cantidades en proteínas así como en la disponibilidad de la lisina.

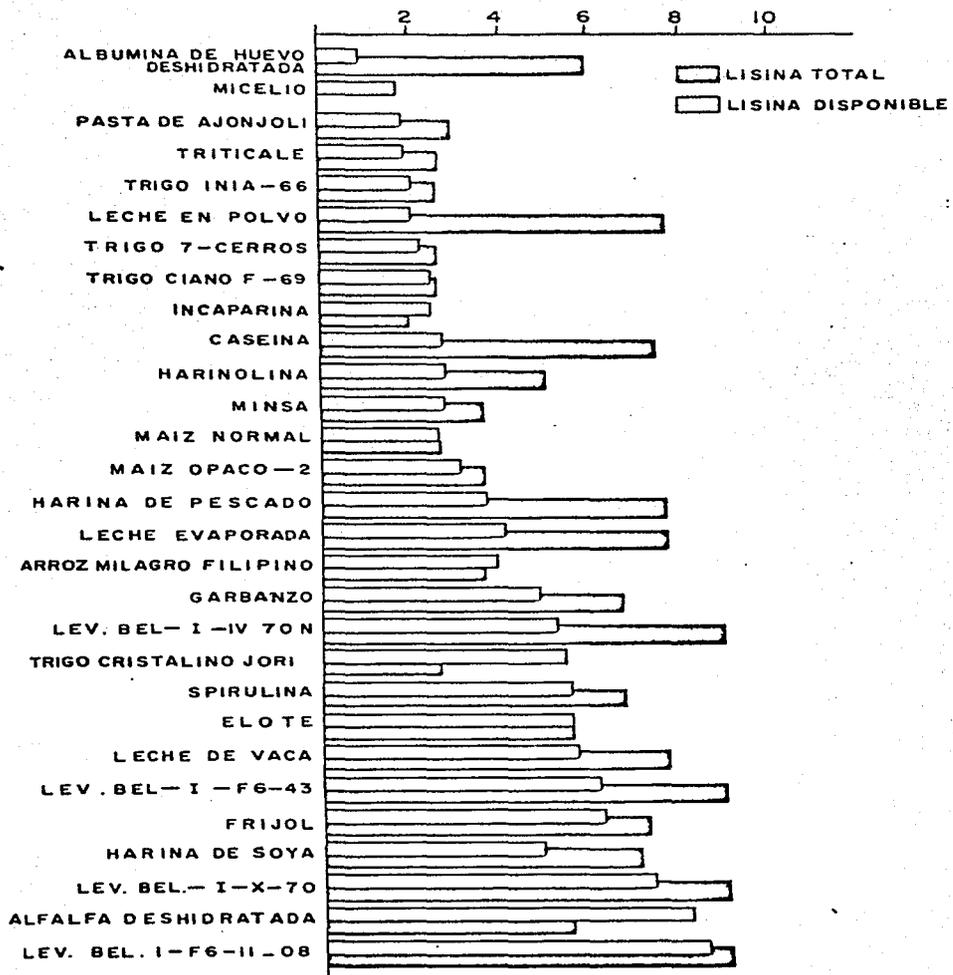
Aquellos cereales que en la literatura están reportados con mejoramientos genéticos, tales como el maíz opaco-2 algunas variedades de trigos mostraron tener un mayor contenido en proteínas y en lisina.

La disponibilidad de estos granos aumentó significativamente ya que es un aminoácido que en proteínas vegetales se encuentra en muy bajas cantidades.

También se pudo observar que aquellas muestras que estuvieron sometidas a procesados tecnológicos muy drásticos: leche en polvo, harina de pescado, harina de soya, mostraron variaciones con los datos de la literatura, y se asume que estas diferencias son debidas a el tipo de procesado especialmente la temperatura.

A fin de comparar los resultados obtenidos en este trabajo de lisina disponible y lisina total ( ver gráfica 4 ) o sea la medida por cromatografía, se presenta esta gráfica con ambos datos y así se ve claramente aquellas muestras procesadas que mostraron una dismi-

LISINA (g/16 g N)

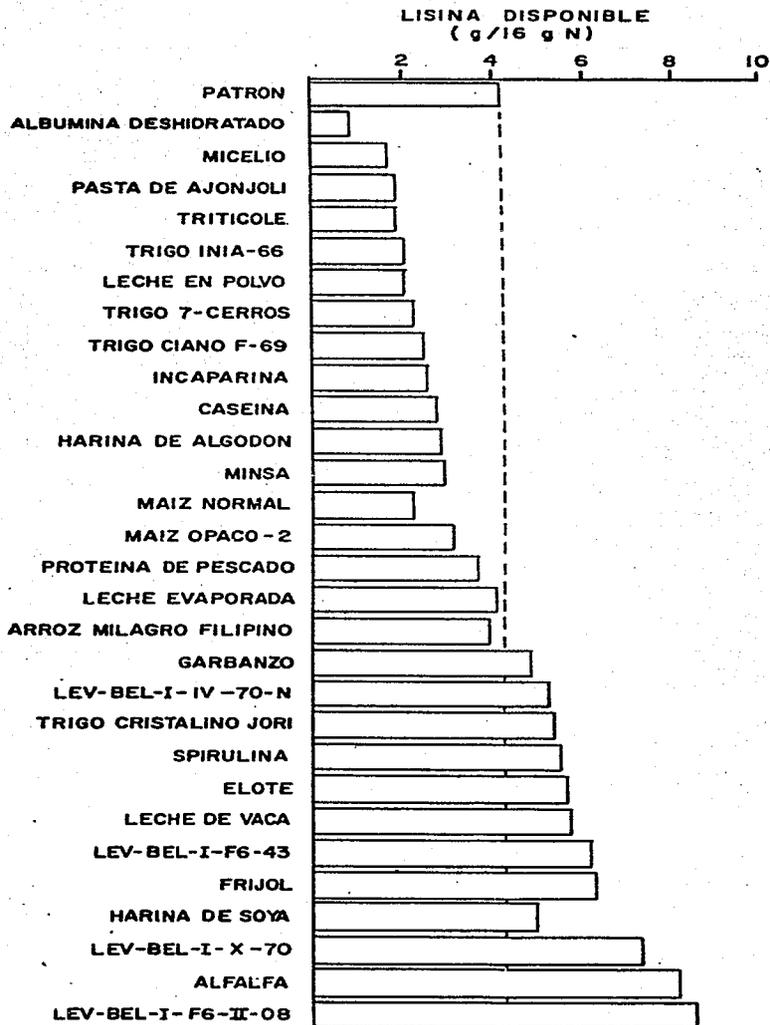


nución considerable de lisina disponible comparada con los cereales y granos en que esa diferencia fue pequeña o nula.

En cuanto a las muestras que no son utilizadas actualmente como alimentos de consumo humano harinolina, pasta de ajonjolí, levaduras que crecen en el petróleo, alfalfa presentan una buena cantidad de este aminoácido lo cual las hace aceptables si se les compara con el patrón de aminoácidos aceptado por la F.A.O. ( ver gráfica 5 ).

Con esto se concluye que la disponibilidad de la lisina se ve seriamente afectada por el procesado seguido. Sería pues aconsejable que en aquellos alimentos procesados, principalmente de origen vegetal en que la lisina es limitante, se mida lisina disponible en lugar de lisina total.

Para que un producto sea aceptado como alimento para la población humana, debe realizarse un estudio profundo sobre sustancias tóxicas, su digestibilidad, su aceptación en cuanto a olor y sabor y realizar una valoración de algún otro aminoácido esencial como triptofano y metionina que son los limitantes en nuestro país.



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

- 1.- ONU (1968) Acción Internacional para evitar la inminente crisis de proteínas. ONU Nueva York.
- 2.- Ramírez, H.J., Arroyo, P. y Chávez, V.A. Aspectos Socio-económicos de los Alimentos y la Alimentación en México. Sobretiro de Comercio Exterior. XXI p. 675 (1971)
- 3.- Sckimshaw, N.S. Protein Metabolism and Related Problems in Human Nutrition. Food Technology XVI 26-31 (1962)
- 4.- Bressani, R., y de Sagui, S. Suplementación de Caseína y de Mezclas Vegetales a base de Harina de Soya, con Metionina, Hidroxi análogo de Metionina y Vitamina B<sub>6</sub>. Archivos Latinoamericanos de Nutrición. OMS Pub. Cient. 146 179-94 (1969)
- 5.- Nutrición Humana. Benjamín T. Burton 2a. Edición 1969 Mc. Graw-Hill Inc.
- 6.- Casas Campillo, C., Medrano, H. y Larrea, S. Obtención de Proteína de Origen Unicelular Utilizando Hidrocarburos del Petróleo. Revista del Instituto Mexicano del Petróleo. III 58-71 (1971)
- 7.- Martínez, N.G. Sterols of Spirulina Máxima. Phytochemistry 10 2537-38 (1970)
- 8.- Bourges, H., Sotomayor, A., Mendoza, E. y Chávez, A. Utilization of the Alga Spirulina as a Protein Source. Nutrition Report International. 4 31-43 julio (1971)
- 9.- Harpstead, D.D. High Lysine Corn. Scientific American 225 34-42 (1971)
- 10.- Hernández, E. y Alanís, F.G. Estudio Morfológico de Cinco Nuevas Razas de Maíz de la Sierra Madre Occidental de México: Implicaciones Filogenéticas y Fitogenéticas. Agrociencia 5 3-30 (1970)
- 11.- Murphy, J.J. y Dalby, A. Changes in the Protein Fraction of Developing Normal and Opaque-2 Maize Endosperm. American Association of Cereal Chemists. 48 336-49 (1971)
- 12.- Ford, J.E. A Microbiological Method for Assessing the Nu-

- tritional Value of Proteins. Brit. J. Nutr. 16 409 (1962)
- 13.- Neurath, H. The Proteins 2a. Edición 1 6 (1963) Academic Press
- 14.- Textbook of Biochemistry. West, E.S., Todd, W.R., Mason, H.S., Von Bruggen, J.T. 4a. Edición The McMillan Company Nueva York
- 15.- Sambucetti, M.E. y Sanahuaja, J.C. El Valor Nutritivo de las Harinas de Pescado y su Relación con el Contenido en Lisina y Metionina Disponibles. Archivos Latinoamericanos de Nutrición. XVIII 119-133 (1970)
- 16.- Sanger, F. The Free Amino Groups of Insulin. J. Biochem 39 507-15 (1945)
- 17.- Lea, C.H. y Hannan, R.S. Biochem. Biophys. Acta. 4 518 (1950)
- 18.- Carpenter, K.J. y Ellinger, G.M. The Estimation of "Available Lysine" in Protein Concentrates. Poultry Sci. 34 1-51 (1955)
- 19.- Carpenter, K.J., Ellinger, G.M., Munro, M.I. y Rolfe, E. J. Brit. J. Nutr. 11 162 (1957)
- 20.- Conkerton, E.J. y Frampton, V.L. Reaction of Gossypol with Free E-Amino Groups of Lysine in Proteins. Archives of Biochemistry and Biophysics 81 130-34 (1959)
- 21.- Baliga, B.P., Bayliss, M.E. y Lyman, C.M. Determination of Free Lysine E-Amino Group in Cottonseed Meals and Preliminary Studies on Relation to Protein Quality. Archives of Biochemistry and Biophysics 84 1-6 (1959)
- 22.- Handwerck, V., Bujard, E. y Mauron, J. The Reduction of Aromatic Nitro Groups During Acid Hydrolysis in the Presence of Carbohydrates and its Bearing on the Colorimetric Determination of E-Dinitrophenil Lysine. J. Biochem. 76 54 (1960)
- 23.- Lucas, F., Shaw, J.T.B. y Smith, S.G. Amino Acid Analysis with Fluorodinitrobenzene. Analytical Biochem. 6 335-51 (1963)
- 24.- Raghavendar, R.S., Carter, F.L. y Frampton, V.L. Determination of Available Lysine in Oilseed Meal Proteins. Ana-

litical Chemistry 35 1927-30 (1963)

- 25.- Bruno, D. y Carpenter, K.J. A Modified Procedure for the Estimation of Available Lysine in Food Proteins. J. Biochem. 67 13 (1957)