

BIBLIOTECA FAC. DE QUIMICA

Estudio del Mecanismo Enzimático de Formación de Volátiles Aromáticos del Ajo

A LA LUZ DEL METODO DE JAGER. PARA LA DETERMINACION
DEL ACIDO PIRUVICO

ESPERANZA LOPEZ DECAEN

MEXICO, D. F.

1959



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.

Estudio del Mecanismo Enzimático de Formación de Volátiles Aromáticos del Ajo

**A LA LUZ DEL METODO DE JAGER. PARA LA DETERMINACION
DEL ACIDO PIRUVICO**

TESIS

que presenta para su examen profesional de

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

ESPERANZA LOPEZ DECAEN

ante la

Universidad Nacional Autónoma de México

Escuela Nacional de Ciencias Químicas

**INSTITUTO MEXICANO DE INVESTIGACIONES TECNOLOGICAS
LABORATORIO DE BIOQUIMICA APLICADA**

MEXICO, D. F.

1959

Deseo expresar mi reconocimiento a la Dirección y Técnicos del Instituto Mexicano de Investigaciones Tecnológicas y especialmente a la Sección de Bioquímica Aplicada, por la asistencia y facilidades que me fueron brindadas para la realización del presente trabajo.

A la Oficina de Investigaciones Industriales del Banco de México, S. A., por el apoyo otorgado a través de su Sección de Educación y Beecas.

- I. INTRODUCCION
- II. ANTECEDENTES
- III. PARTE EXPERIMENTAL
- IV. RESULTADOS
- V. CONCLUSIONES
- VI. BIBLIOGRAFIA

I. INTRODUCCION

Las condiciones climatológicas que prevalecen en nuestro país favorecen el cultivo del ajo en determinadas épocas del año. Los bulbos cosechados no pueden ser almacenados a temperatura ambiente por períodos mayores de cuatro meses ya que sufren marcados cambios. Como consecuencia de estas limitaciones, la disponibilidad de ajo producido en México suele ser irregular y su precio tiende a fluctuar en el curso del año.

La exportación del ajo mexicano es también un capítulo de gran interés, en el que incurren diversos factores técnicos y económicos a considerar. La irregularidad en las características del producto de origen y la facilidad con que el bulbo sufre modificaciones adversas a su calidad, por efecto del tiempo, condiciones de almacenamiento, transporte y otras, representan problemas concretos que ameritan investigación.

Como probable solución a algunos de estos problemas se tiene la posibilidad de obtener un producto deshidratado que sea homogéneo y estable, que conserve las características básicas del ajo como condimento y además facilite su manejo y almacenamiento. Las mejoras que puedan lograrse en los procesos industriales destinados a la deshidratación del vegetal, están condicionadas en parte, al conocimiento de las características físico-químicas del ajo y en particular a los delicados y complejos mecanismos de reacción del sistema enzimático que produce el olor típico de este condimento; se estima que este conocimiento es aún limitado e insuficiente para permitir lograr avances importantes en el campo de nuevos procesos. La intensa reactividad de ese sistema enzimático es un factor limitante para la adopción de procedimientos de deshidratación rápida, en virtud de que el tejido del bulbo no puede

II. ANTECEDENTES

fragmentarse sin que ocurra un inmediato desprendimiento de compuestos volátiles (10), estructuras que es necesario retener para que el producto sea de calidad adecuada.

Se consideró como objetivo principal de este trabajo el estudio del comportamiento de ese sistema enzimático en diversas condiciones; para alcanzar el mejor conocimiento de su mecanismo de reacción se investigó en forma detallada el método de Jäger, y la modificación que de él se hizo para la determinación del ácido pirúvico, formado conjuntamente con otros productos aromáticos en esa reacción enzimática.

II. ANTECEDENTES

Los estudios realizados a la fecha sobre el mecanismo de formación de productos aromáticos en el ajo arrojan evidencia de que el olor característico del bulbo no se debe a una sustancia preformada en el tejido, sino que es producida como resultado de una reacción enzimática. Para que esta reacción se lleve a efecto, es necesario que entre en contacto un sustrato al que se ha llamado aliina y agua, en presencia de una enzima específica, denominada alinasa, que presumiblemente se encuentra en estructuras diferentes dentro de una misma celdilla o en diferentes celdillas.

En ciertas condiciones, la alinasa actúa sobre la aliina y el agua liberando como productos finales, amoníaco y ácido pirúvico en relación estequiométrica; se desprende además alicina que es el compuesto considerado como el responsable del olor característico del ajo (3).

La aliina, compuesto estructuralmente relacionado con la cistina, se encuentra en el tejido del ajo, ha sido aislada y caracterizada, tanto desde el punto de vista estructural, como del de sus propiedades físicas y químicas y se ha demostrado que es el precursor de la alicina (13, 14).

La enzima específica, alinasa, pertenece al grupo de las enzimas que degradan los aminoácidos que incluyen azufre en su molécula (12). La alinasa se ha podido purificar hasta cierto grado, por precipitación en su punto isoeléctrico (10). Por estudios experimentales se ha demostrado que esta enzima es relativamente inestable tanto en solución como adsorbida en fosfato tricálcico o en carbón; es inactivada por solventes orgánicos tales como etanol, o éter dietílico. A 3°C no conserva su actividad por más de catorce días y parece ser que su estabilidad aumenta en estado de congelación.

Se ha encontrado que en el sistema enzimático aliina-alinasa interviene el fosfopiridoxal como coenzima (7).

El agua es un elemento indispensable para que tenga lugar la escisión por intervenir en ella como reactivo primario. Como se señala en párrafos anteriores, los compuestos finales de la interacción de aliina-alinasa son alicina, ácido pirúvico y amoníaco, los que no se consideran productos inmediatos de reacción sino se supone que son compuestos resultantes de estructuras inestables de transición.

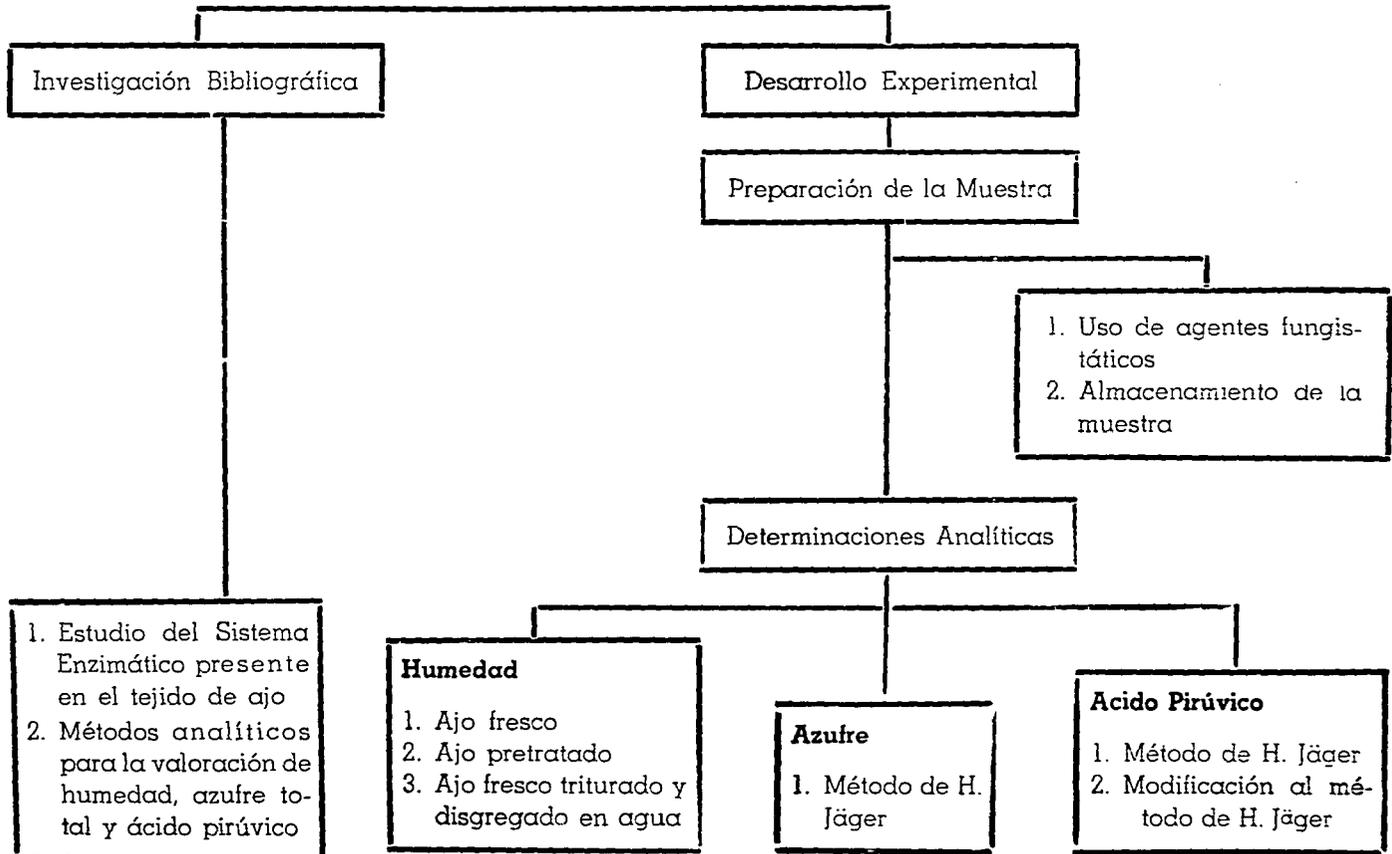
La velocidad de reacción, en condiciones óptimas de temperatura y acidez o alcalinidad, es extremadamente alta. En estas condiciones al cabo de dos minutos, más del 80% de la aliina ha sido escindida y la reacción es prácticamente completa a los cuatro minutos (5). Una observación es que la alinasa puede descomponer hasta 20% del sustrato en sólo dos minutos a 0°C (11).

La alicina es el compuesto responsable directamente del olor característico del ajo. Es volátil y algo soluble en agua, pudiéndose disolver hasta 2.5 g en 100 ml a una temperatura de 10°C (4). Si una solución acuosa de alicina se somete a destilación se obtiene un producto aceitoso, insoluble en agua y de olor desagradable, lo que hace suponer que este aceite de ajo, no es por consiguiente, un producto primario de la degradación enzimática de la aliina, sino el resultante de cambios químicos en la molécula de la alicina, ya sea por hidrólisis o por pérdida de un átomo de oxígeno cedido a compuestos fácilmente oxidables (10).

La determinación de los productos resultantes de la reacción enzimática puede ser aplicada a la medición de la actividad de la alinasa. Entre los métodos empleados con este fin se conoce el de Folin (6), que cuantea amoníaco y el de Jäner, que valora colorimétricamente el ácido pirúvico en forma de su 2,4 dinitrofenilhidrazona (10). Las condiciones de reacción enzimática, así como la mayor estabilidad del ácido pirúvico hacen que la determinación cuantitativa de éste, proporcione valores más reproducibles.

III. PARTE EXPERIMENTAL

ESTUDIO DEL MECANISMO ENZIMATICO DE FORMACION DE VOLATILES AROMATICOS DEL AJO, A LA LUZ DE METODO DE JAGER PARA LA DETERMINACION DE ACIDO PIRUVICO



A.—Preparación de la muestra.

Las cabezas de ajo se liberaron en forma manual de sus túnicas protectoras y los dientes se separaron individualmente.

Los ajos en esas condiciones representan un medio favorable para el desarrollo de hongos, los que crecen en su superficie, y pueden afectar la composición del diente, conforme progresa su desarrollo.

A fin de prevenir o retardar el desarrollo de hongos, se probaron el ácido sórbico y el propionato de calcio, no presentando ninguno de los dos acción aparente sobre el sistema enzimático y sí acción fungistática efectiva (ver Tabla N° 1). Se prefirió usar ácido sórbico por ser cristalino, lo que facilitó su espolvoreo sobre el material.

La muestra así tratada se dividió en pequeños lotes, los que se almacenaron a temperatura de 8°C. En bolsas de polietileno convenientemente selladas.

El ajo fresco que se empleó como materia prima en este estudio fue de las variedades "Blanco Italiano" y "Morado Chileno".

B.—Determinaciones analíticas.

La parte experimental incluye la realización de trabajos tendientes al establecimiento de métodos adecuados de análisis, que permitan su empleo en la caracterización del sistema enzimático del ajo.

1.—Métodos para determinar el contenido de humedad en muestras de ajo fresco.

- a. Secado a presión atmosférica, a temperatura de 60°C.
- b. Secado a presión atmosférica, bajo lámpara de rayos infrarrojos.
- c. Secado a presión comprendida entre 75-100 mm de mercurio, a temperatura de 45-50°C.
- d. Secado en pistola de Abderhalden a presión reducida, comprendida entre 1-3 mm de mercurio, temperatura de 45-50°C y en presencia de pentóxido de fósforo.

Las determinaciones se llevaron a cabo con dientes de ajo enteros, ya que al fragmentarlos se desencadena la reacción enzimática produciendo fijación de agua y desprendimiento de productos volátiles.

En el primero de los métodos, el material sufrió alteraciones muy marcadas que impidieron su valoración. En los otros métodos se observó que los dientes se recubren de una película impermeable que dificulta la transferencia de agua de su interior hacia la atmósfera circundante, prolongándose por tal motivo el tiempo de secado. En el mejor de los casos la pérdida total de peso fue equivalente al 66.4% del peso total del material. (Blanco Italiano).

En los métodos anteriores de secado se observó también un desarrollo parcial de la reacción enzimática.

Para evitar las dificultades que prevalecen en la determinación de humedad en los dientes de ajo enteros por formación de la película, así como el consumo de agua en la reacción enzimática al triturar el diente de ajo, se consideró la posibilidad de someter al ajo a diversos pretratamientos con el fin de inactivar el sistema enzimático y permitir por consiguiente el aumento de la superficie de secado por fragmentación. Entre los primeros se incluyen:

- a. Tratamiento con metanol. Se llevó a cabo colocando una muestra de ajo bajo metanol a temperatura ambiente durante cinco días.

- b. Tratamiento con calor. Consistió en someter durante una hora el ajo a 100-110°C, a presión atmosférica.

En ambos casos, el material supuestamente inactivado se trituró en forma manual y el producto resultante se sometió a la determinación de humedad por los siguientes métodos que se llevaron a cabo hasta lograr una estabilización en la pérdida de peso.

- a. Secado en estufa a temperatura comprendida entre 45-50°C a presión reducida de 75-100 mm de mercurio.
- b. Secado a temperatura ambiente, en desecador de vacío a presión reducida de 75-100 mm de mercurio y en presencia de pentóxido de fósforo.

En el caso del pretratamiento con mentanol, se obtuvieron valores de pérdida de peso del 77 al 79% debido a que parte de los constituyentes fueron solubilizados por dicho alcohol. En las muestras sometidas al tratamiento térmico, la pérdida de peso fue del 64 al 67% (ver Tabla N° 3).

Es de notarse que durante el proceso de secado de las muestras anteriores, se hizo perceptible un marcado olor a ajo, lo cual sugiere que los sistemas enzimáticos no sufrieron el grado de inactivación deseado.

En virtud de las deficiencias de los métodos hasta aquí anotadas, se intentó establecer un método que además de aumentar la superficie de secado, permitiese la total reacción enzima-sustrato, así como la liberación de productos volátiles; para ello, una muestra pesada se disgregó en agua mediante el uso de una licuadora, se aforó a un volumen conocido del que se tomaron muestras que se evaporaron a sequedad. El secado se efectuó a presión reducida comprendida entre 75-100 mm de mercurio y a temperatura de 45-50°C en estufa de vacío.

La diferencia de peso entre la muestra de ajo fresco que se tomó y los sólidos totales secos se consideró como contenido de humedad, aun cuando no corresponde exclusivamente a pérdida de agua ni incluye toda el agua existente en el ajo fresco, ya que una parte interviene en la reacción enzimática, supuesto que sabemos que este es un factor de poca importancia. El valor promedio que se obtuvo fue de 66.3% (ver Tabla No. 4).

2.—Método para determinar azufre total en muestra de ajo fresco.

En los trabajos realizados por Stoll (10), se ha demostrado que existe una relación entre el azufre total y el contenido de aliina, por lo que el contenido de azufre total puede considerarse como un índice que nos permite juzgar en forma sencilla y rápida la calidad de un producto (10, 15).

Para esta determinación se empleó el método propuesto por Jäger (8). Este método está basado en la destrucción oxidativa de la materia orgánica, quedando el azufre transformado en sulfato inorgánico, susceptible de ser determinado gravimétricamente como sulfato de bario.

Las determinaciones se llevaron a cabo en muestras de 25 g y el valor de esta determinación fue de 283.3 mg (base húmeda) (ver Tabla N° 5).

3.—Método para determinar ácido pirúvico en muestras de ajo fresco.

De acuerdo con la reacción enzimática ya descrita, se sabe que el ácido pirúvico formado durante la reacción entre la aliina y la alinasa nos permite valorar el comportamiento y la actividad de esa enzima, la que conserva una reactividad prácticamente uniforme cuando actúa a temperatura óptima de 37°C y a una concentración de iones hidrógeno comprendida entre pH 5 y 8 inclusive.

Uno de los métodos analíticos existentes para la determinación del ácido pirúvico es el propuesto por Jäger, método que se utilizó en las experiencias preliminares.

Los resultados obtenidos en esas determinaciones son representativos (1), pero dada la rapidez de reacción del sistema enzimático presente en el ajo y la finalidad de este estudio: conocer en forma somera el comportamiento de la alinasa, han hecho ver la posibilidad de que el método de Jäger es susceptible de ciertas modificaciones que nos permiten:

- a. Disminuir algunas fuentes de error observadas al estudiar detenidamente el método.

- b. Adaptarlo, en la medida de lo posible, para obtener resultados que nos faciliten una mejor interpretación del problema planteado.

Entre las modificaciones que se sugieren, se encuentran:

- a. Empleo de mayor cantidad de muestra. Modificación que permite disminuir el error que se tiene cuando se miden volúmenes pequeños.
- b. Forma de disgregar el tejido de ajo. Modificación que obedece a la observación experimental de que la cantidad de ácido pirúvico capaz de ser liberado vía reacción enzimática guarda estrecha relación con el grado de disgregación que presente el tejido de ajo. El método original de Jäger recomienda una trituración de los dientes de ajo en un mortero, previa adición de arena silíceo, pudiendo comprobarse en forma experimental que el grado de fragmentación a que se llegó depende de numerosos factores tales como forma, tamaño y material del mortero, granulometría de la arena empleada, tiempo de trituración y técnica operatoria personal.

Por otra parte, la ruptura de celdillas permite la interacción del sustrato y la enzima, de lo que se puede deducir que en un momento dado la alinasa se encuentre frente a concentraciones altas de productos de escisión, los que actúan como inhibidores del sistema enzimático que los produjo, según lo mostraron experiencias efectuadas en el laboratorio. En consecuencia, se ve que el ácido pirúvico factible de determinar en un material de esta naturaleza se encuentra sujeto a factores de variación de difícil control.

Por ello, se prefirió disgregar el tejido de ajo en un volumen de agua tal, que evite la alta concentración de los productos de reacción, haciendo uso de una licuadora que, además de favorecer la mejor ruptura de celdillas y en consecuencia permitir un contacto más íntimo entre el sustrato y la enzima, produce una suspensión homogénea. Para que los datos obtenidos fueran uniformes se fijó tiempo y velocidad de licuado, así como peso de muestra y volumen de agua empleado.

Para disgregar la muestra se usó una licuadora marca Skimo, cuyas aspas estaban orientadas alternamente hacia abajo y hacia

arriba y además se dejaron romas; la disgregación se llevó a cabo a 8,000 rpm durante dos minutos y después a 8,600 rpm durante un minuto; en esa forma no se tuvo una marcada variación en la temperatura de la suspensión y el material obtenido fue de granulometría aceptable para los fines del método.

La relación ajo:agua, la temperatura y tiempo de incubación son factores importantes en la reacción enzimática, ya que la favorecen o limitan según las condiciones en que se encuentren esas variables.

Se estudiaron las siguientes relaciones: 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:10. Al observar los resultados se encontró que la relación ajo:agua, 1:3, es la más conveniente desde el punto de vista de manipulación, ya que la liberación es prácticamente la misma que en las otras concentraciones ensayadas, con excepción de la relación 1:1 en la que se obtienen valores inferiores como se muestra en la tabla 6, gráfica 1.

Las temperaturas que se probaron en este estudio fueron: 1, 5, 10, 22, 37, 42, 57, 73 y 82 °C. La temperatura óptima de reacción en la que se obtiene la máxima cantidad de ácido pirúvico es la de 37 °C, como lo señala Jäger en su método. Experimentalmente se demostró que no hay influencia muy significativa cuando la temperatura de molienda e incubación se encuentran entre 22 y 37 °C, los valores se encuentran resumidos en la tabla 7, gráfica 2.

Los tiempos de incubación que se probaron fueron: 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15 y 30 minutos, el tiempo de incubación en el que se tiene la máxima cantidad de ácido pirúvico es de cinco minutos, encontrándose que al cabo de 30 minutos el valor de ácido pirúvico ha disminuido solamente un 5% los resultados se encuentran agrupados en la tabla 8, gráfica 3.

Una vez licuado el material se tomaron muestras, en las que se determinó el ácido pirúvico. Primeramente se eliminó el material albuminoideo por precipitación con ácido tricloroacético y después se procedió a la formación de las hidrazonas de los compuestos con función aldehído o cetona, como por ejemplo algunos azúcares que existen entre ellos: la hidrazona del ácido pirúvico se separa por solución selectiva en amoníaco 2N y se valora colorimétricamente.

El comportamiento del ácido pirúvico ha sido investigado por varios autores, entre ellos Williams (16), que establece que la per-
fusión de músculo en una solución que contiene ácido pirúvico
origina ácido succínico y ácido fórmico, los que se forman de acuer-
do con la siguiente reacción:



El ácido fórmico desaparece por oxidación, en tanto que el áci-
do succínico es dehidrogenado a fumárico y éste convertido a ácido
pirúvico que reinicia el ciclo, pero a mitad de la concentración ori-
ginal.

Bajo la suposición que el ácido tricloroacético pudiera influir en
alguna forma sobre la intensidad de esta reacción, ya que Lunds-
gaard (16) encontró que el yodoacetato influye la fermentación de
las levaduras, proceso en que el ácido pirúvico interviene activa-
mente, se hicieron algunas pruebas en las que se varió el tiempo
de contacto con el ácido tricloroacético; los resultados obtenidos en
esta prueba nos indican que no hay ninguna acción aparente como
se muestra en la tabla 9.

IV. RESULTADOS

Los resultados obtenidos en las experiencias antes descritas en la "Parte Experimental" se encuentran agrupados en las tablas que a continuación se presentan.

En ellas se señalan las condiciones en que fue hecha la determinación correspondiente a cada una de ellas, así como la variedad de ajo que se usó en cada estudio.

TABLA N° 1

EMPLEO DE FUNGISTATICOS

Muestra de Ajo Variedad Blanco Italiano	Actividad Enzimática (Tomando como 100 la del ajo sin aditivo)
Con ácido sórbico	98.63
Con propionato de calcio:	99.35

TABLA N° 2

VALORACION DE HUMEDAD

Métodos de secado	Pérdida de peso %
Con rayos infrarrojos	64.3
A presión reducida (75-100 mm de mercurio) y temperaturas de 45-50°C	57.0
A presión reducida (1-3 mm de mercurio) y temperaturas de 45-50°C en presencia de pentóxido de fósforo	66.4

Variedad: Morado Chileno

TABLA N° 3

EFFECTO DEL TRATAMIENTO TERMICO

Calentamiento a 100-110°C (durante una hora)

Muestras	mg de ácido pirúvico en 100 g ajo fresco	Actividad %
Control	381.69	100.00
A	45.14	11.82
B	49.24	12.90
Promedio	47.19	12.36

Variedad: Morado Chileno

Contenido de Azufre = 270.69 mg/100 g

TABLA N° 4

DETERMINACION DE HUMEDAD

(Usando ajo fresco triturado y disgregado en agua)

(Secado de la suspensión por calentamiento a 45-50°C
y 75-100 mm de presión)

Muestra No.	Sólidos totales %	Pérdida de peso %
1	33.49	66.51
2	33.72	66.28
3	34.37	65.63
4	33.54	66.46
5	33.36	66.64
6	33.78	66.22
Promedio	33.71	66.29

Variedad: Blanco Italiano.

TABLA N° 5

DETERMINACION DE AZUFRE TOTAL EN AJO BLANCO ITALIANO

Muestra	Azufre total mg/100 g
1	286.9
2	293.0
3	277.7
4	308.1
5	283.2
6	282.9
7	297.4
8	282.4
9	261.1
10	260.1
Promedio	283.3

TABLA N° 6

INFLUENCIA DE LA CONCENTRACION DE AJO EN LA ESCISION ENZIMATICA

(Licuado: 3 minutos, Tiempo de incubación: 5 minutos,
Temperatura: 37°C)

Muestra No.	Relación ajo:agua	Acido pirúvico (mg) por 100 g ajo fresco	Actividad %
1	1:1	415.48	77.24
2	1:2	537.87	100.00
3	1:3	508.94	94.62
4	1:5	526.63	97.91
5	1:10	501.35	93.21

Variedad: Blanco Italiano.

TABLA N° 7
EFFECTO DE LA TEMPERATURA DE INCUBACION SOBRE LA
CANTIDAD DE ACIDO PIRUVICO LIBERADO
EN LA REACCION

(Licuado: 3 minutos, Concentración ajo: agua, 1:3, Tiempo de incubación: 5 minutos)

Muestra No.	Temperatura °C	Acido pirúvico (mg) por 100 g ajo fresco	Actividad %
1	1	214.68	39.13
2	5	522.12	95.17
3	10	539.23	98.29
4	22	543.42	99.05
5	37	548.61	100.00
6	42	532.93	97.14
7	57	498.02	89.13
8	73	439.94	80.19
9	82	421.01	76.74

Variedad: Blanco Italiano.

TABLA N° 8
DETERMINACION DEL TIEMPO OPTIMO DE INCUBACION EN QUE
SE LIBERA MAYOR CANTIDAD DE ACIDO PIRUVICO

(Licuado, 3 minutos, Concentración ajo-agua: 1:3, Temperatura, 37°C)

Muestra No.	Tiempo de incubación minutos	Acido pirúvico (mg) por 100 g ajo fresco	Actividad %
1	4	490.48	91.80
2	5	534.16	100.00
3	6	523.83	98.06
4	7	516.41	96.67
5	8	505.50	94.63
6	9	501.87	93.95
7	10	504.63	94.47
	15	487.62	91.28
	30	511.62	95.83

Variedad: Blanco Italiano.

TABLA N° 9

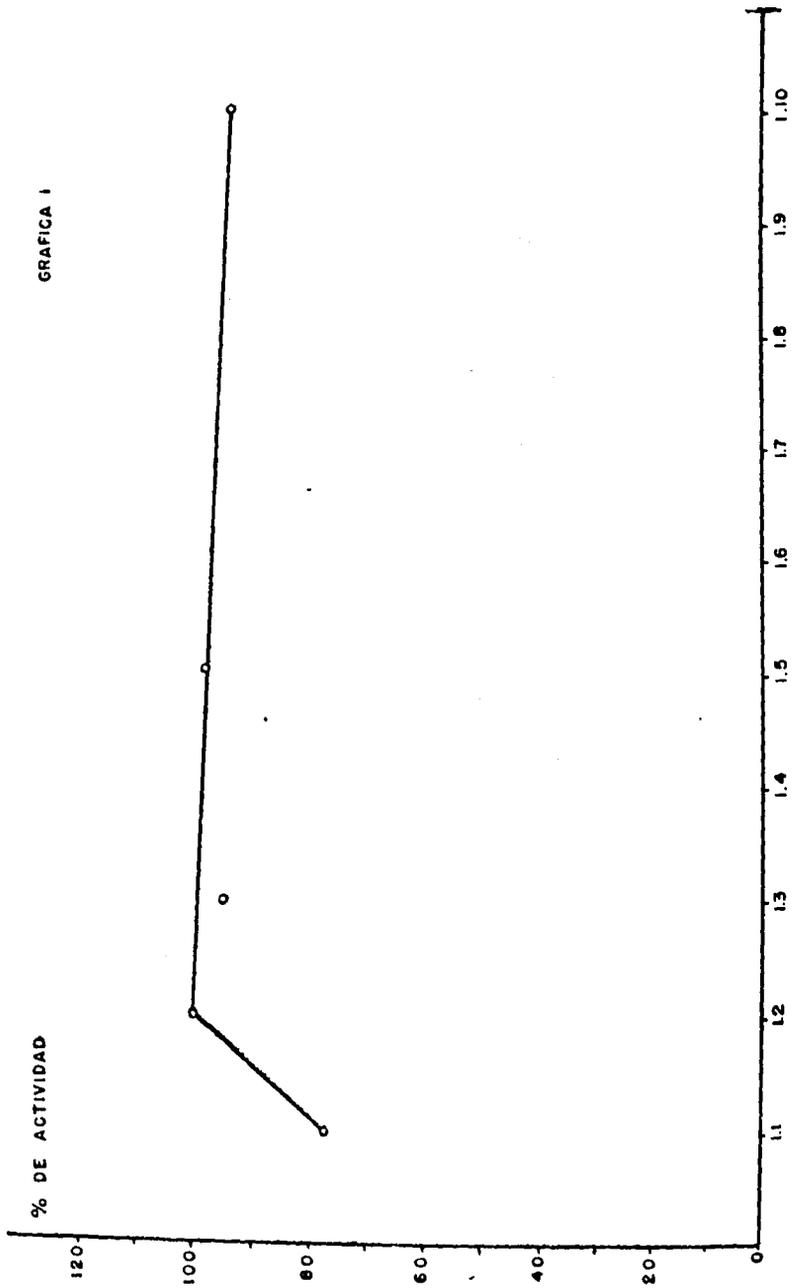
INFLUENCIA DEL TIEMPO DE DEFECACION CON ACIDO TRICLOROACETICO SOBRE LA ACTIVIDAD ENZIMATICA

(Licuado: 3 minutos, Concentración ajo: agua, 1:3, tiempo de incubación: 5 minutos, Temperatura: 37°C)

Muestra No.	Tiempo minutos	Acido pirúvico (mg) por 100 g ajo fresco	Actividad %
1	10	554.10	100.0
2	20	552.78	99.7
3	30	552.78	99.7
4	40	552.78	99.7
5	50	552.78	99.7
6	60	553.66	99.9

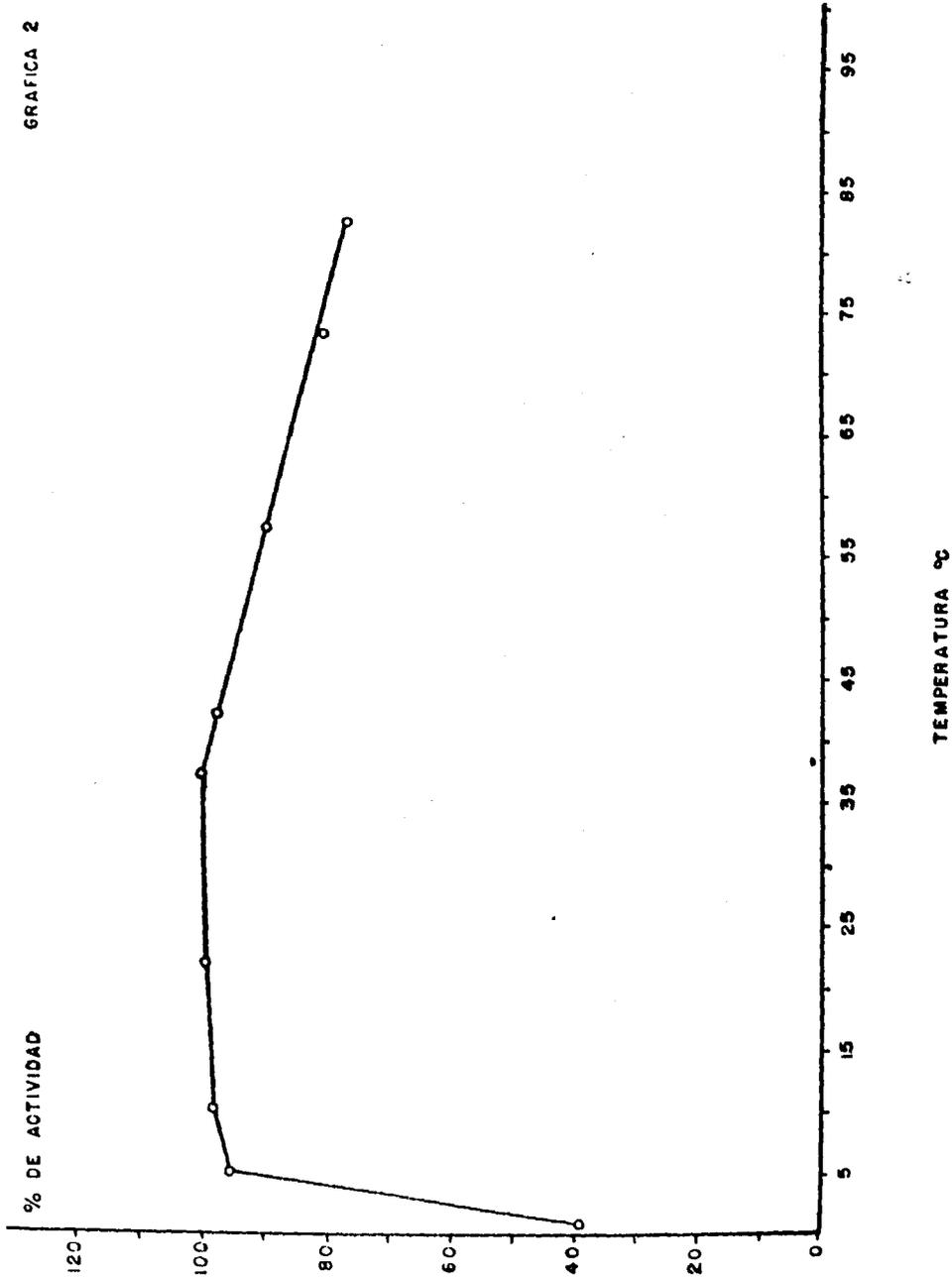
Variedad: Blanco Italiano.

GRAFICA 1

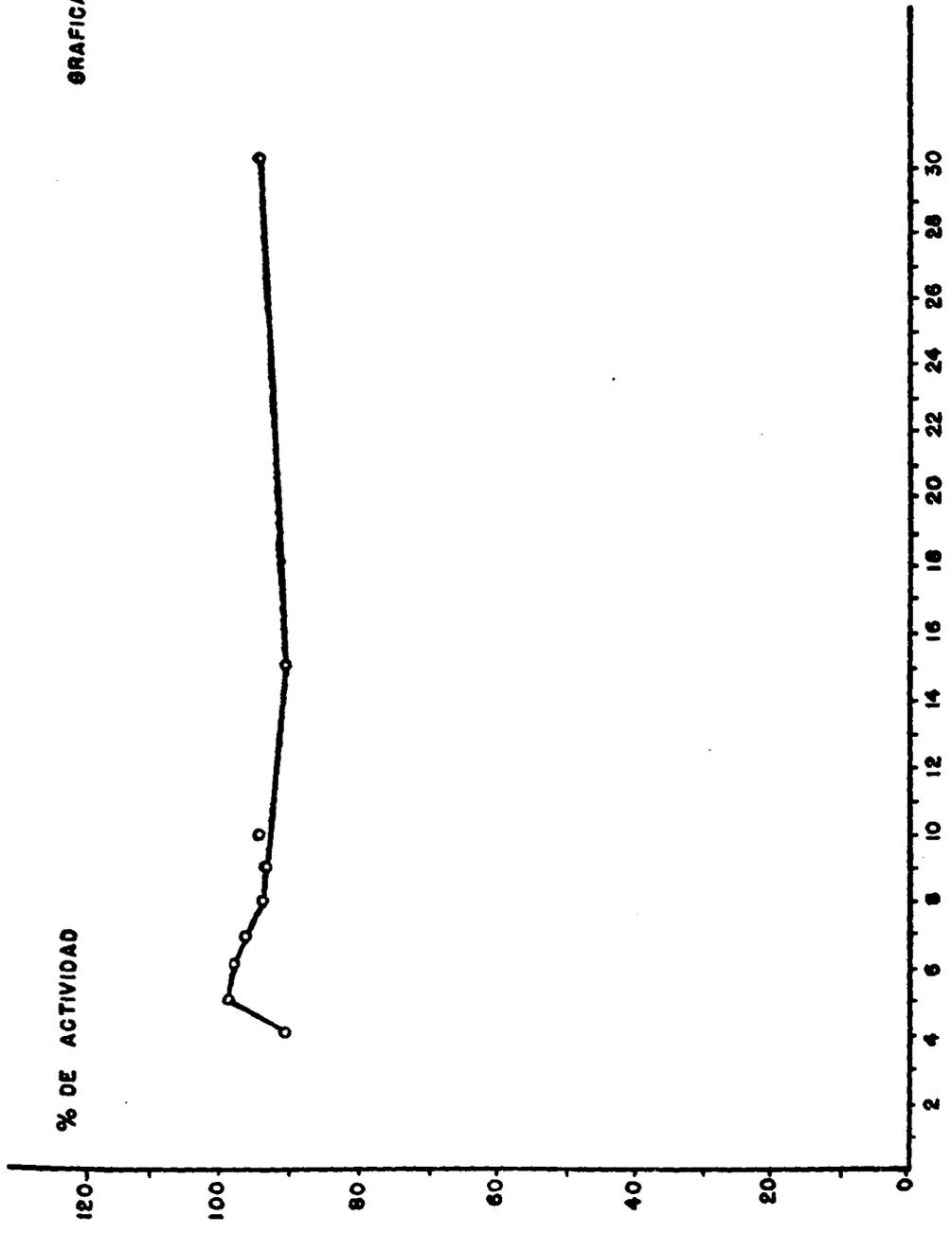


RELACION : AJO, AGUA

GRAFICA 2



GRAFICA 3



V. CONCLUSIONES

1° Los dientes de ajo constituyen un medio favorable para el desarrollo de hongos, por lo que el empleo de agentes fungistáticos es necesario para la conservación de la muestra. Se seleccionó el ácido sórbico, ya que alarga el período de conservación de tres hasta treinta días aproximadamente.

2° Al aplicar los métodos para determinar humedad en dientes enteros de ajo, se observó que el tejido es de tal naturaleza que la transferencia de agua a través del mismo se comporta con gran lentitud.

3° El sistema enzimático presente en el ajo, mediante los pre-tratamientos a que fue sometido, no sufrió el grado de inactivación deseado.

4° En lo que se refiere al método establecido para la determinación de humedad disgregando el ajo en agua, puede considerarse que los valores en pérdida de peso obtenidos son muy similares a los obtenidos por otros métodos, presentando la ventaja de que permite determinar en forma simultánea el ácido pirúvico, pudiendo referir, sin error, los resultados tanto a base húmeda o a base seca indistintamente.

5° La relación existente entre el contenido de azufre total y de alilina para cada variedad de ajo, puede considerarse como un índice que permite juzgar en forma sencilla y rápida la calidad de un producto.

6° La relación azufre: ácido pirúvico en la variedad "Blanco Italiano" es aproximadamente 1:2.

7° La aplicación del método de Jäger para la determinación de azufre total en muestras de ajo ha arrojado datos coherentes

y presenta la ventaja de ser una técnica operatoria relativamente sencilla.

8° Las modificaciones efectuadas al método original de Jäger para determinar el ácido pirúvico liberado en la reacción enzimática fueron:

- a. Empleo de mayor cantidad de muestra.
- b. Disgregación de la muestra en licuadora.
- c. Relación ajo:agua de 1:3.
- d. Tiempo de incubación de 5 minutos.
- e. Temperatura de incubación: cualquier temperatura comprendida entre 22 y 37°C.

Estas modificaciones favorecen la ruptura de celdillas y disgregación del tejido, permiten una mejor interacción entre la enzima y el sustrato y consecuentemente un incremento de velocidad de reacción.

9° El ácido tricloroacético usado como defecante no mostró interferir en forma alguna la producción de la hidrazona del ácido pirúvico.

10° El grado de escisión enzimática de la aliina y el comportamiento de la alinasa, pueden ser medidas mediante la determinación del ácido pirúvico formado en la reacción entre la aliina y la alinasa.

VI. BIBLIOGRAFIA

- 1.—Allonso, H. N.
 "Contribución al estudio de la calidad de algunas variedades de ajo mexicano".
 Tesis profesional.
 Instituto Mexicano de Investigaciones Tecnológicas.
 México, (1957).
- 2.—Bergmann, M. y Grate, Z. K.
Physiol. Chem.
 Vol. 187, (1930).
- 3.—Cavallito, C. J., Buck, J. y Suter, C.
J. Am. Chem. Soc.
 Vol. 66, 1952 (1944).
- 4.—Chester, J., Cavallito, C. J., y Bailey, J. M.
 "Alcin, the antibacterial principle of *Allium sativum* L.—Isolation, physical properties and antibacterial action. II.—Determination of the chemical structure".
J. Am. Chem. Soc.
 Vol. 66, 1950-54, (1944).
- 5.—"Estudio preliminar para establecer la potencialidad del mercado de cebolla y ajo deshidratado".
 Informe final de la Sección de Ingeniería de Desarrollo, Análisis de Proyectos.
 Instituto Mexicano de Investigaciones Tecnológicas.
 México, (1958).
- 6.—Folin, O.
Z. Physiol. Chem.
 Vol. 37, 161 (1902).
- 7.—Goryochenkova, E. V.
 "Enzyme in Garlic which form Allicine (allylnasa), a protein with Phosphopyridozal".
Doklady Akad. Nauk. S. S. R.
 Vol. 87, 457-460, (1952).

- 8.—Jäger, H.
 "Quantitative Bestimmung von Allizin in Frischem Knoblauch".
 Arch. Pharm.
 Vol. 268, 145-148, (1955).
- 9.—Klein, P. y Souverein, C.
 "The Microbiological Evaluation of the Enzyme-substrate
 System alline-allylase".
 Biochem. Z.
 Vol. 326, 123-131, (1954)
- 10.—Stoll, A. y Seebeck, E.
 Advances in Enzymology.
 Vol. 11.
 Interscience Publishers, Inc.
 Nueva York, (1951).
- 11.—Stoll, A. y Seebeck, E.
 "Allium Compounds. II—Enzyme degradation of alline and the
 properties of allinase".
 Helv. Chim. Acta
 Vol. 32, 197-205, (1949)
- 12.—Stoll, A. y Seebeck, E.
 Helv. Chim. Acta
 Vol. 31, 189, (1948).
- 13.—Stoll, A. y Seebeck, E.
 Experientia.
 Vol. 6, 330, (1950).
- 14.—Stoll, A. y Seebeck, E.
 Helv. Chim. Acta.
 Vol. 34 (1951), in press
- 15.—Wayne, T. E.
 Progress in the development of electro-chemical method for the
 measurement of volatile flavors in vegetables
 Tesis,
 Cornell University,
 Septiembre, (1956).
- 16.—Williams, R. J.,
 "A Textbook of Biochemistry",
 2a. Edición, pág. 390,
 D. Van Nostrand Company, Inc.,
 New York (1942).