

54
545.1 (54)

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS

*Estudio y obtención de la Zeina. Cuanteo
en ella de la Fenil Alanina*

TESIS

DE

GRACIELA CHALELA ACHKAR

PARA SU EXAMEN PROFESIONAL DE

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGA



MEXICO, D. F., 1952.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

*Estudio y obtención de la Zeina. Cuanteo
en ella de la Fenil Alanina*

T E S I S

que para su examen profesional de Químico-Farmacéutico-
Biólogo presenta

GRACIELA CHALELA ACHKAR



QUIMICA

MEXICO, D. F., 1952.

*A mis Padres,
con profundo cariño.*

*A mi Abuelito
y Bisabuelito.*

*A mis Tíos
y Hermanos*

*Con todo agradecimiento al
Dr. José Giral,
bajo cuya dedicación realicé este trabajo.*

A mis Maestros.

CAPITULO I

INTRODUCCION

Los cuerpos denominados comunmente proteínas y antiguamente albuminoides se designan en la actualidad y por acuerdo internacional con el nombre de próticos. Es muy difícil establecer una definición de ellos pero desde luego sus moléculas son compuestos cuaternarios por lo menos, pues tienen: carbono, oxígeno, hidrógeno, y fundamentalmente nitrógeno, muchos tienen también fósforo, azufre, fierro u otros elementos. Su característica general es la de desdoblarse mediante hidrólisis total en un conjunto de cuerpos llamados amino ácidos con algunos otros que son propiamente bases nitrogenadas.

Tienen un peso molecular muy alto y son de naturaleza coloidal aún cuando algunos han podido obtenerse cristalizados, poseen todas las propiedades típicas de los coloides: presión osmótica muy pequeña que en este caso se llama presión oncótica, fuerte viscosidad sus partículas o micelas presentan todos los caracteres correspondientes al estado coloidal es decir que las propiedades llamadas de superficie se encuentran exaltadas; la adsorción, la jaleificación, el movimiento Browniano, el efecto de Tyndall, la catforesis, etc.

En general son levogiros especialmente los naturales pero pierden esta propiedad en presencia de los álcalis por que se racemizan.

Son algo solubles en agua constituyendo electrolitos anfóteros y tienen un momento dipolo considerable.

El punto isoeléctrico varía considerablemente de unos a otros. Como es sabido este punto isoeléctrico en todo electrolito anfótero viene dado por la concentración del ion hidrógeno en relación con las constantes de disociación ácida y alcalina. Cuando una disolución de próticos alcanza ese punto isoeléctrico es cuando pueden coagularse con mayor facilidad y se puede llevar a él la disolución coloidal mediante adición de ácido o de base.

La coagulación de estos cuerpos es simplemente la separación visible de las dos fases que constituyen el sistema disperso: fase dispersa que es sólida y medio dispersante que es líquido generalmente agua. La fase dispersa conglomerada constituye el coágulo y se puede conseguir por diversos medios como son: la acción del calor, la de los ácidos y la de las sales.

Se explica principalmente por que las micelas coloidales tienen carga eléctrica que se neutraliza con la del cuerpo que se le agrega y entonces se precipita.

No debe confundirse la coagulación que es la separación de las dos fases con la jaleificación que es la solidificación del medio entero; es decir la jalea contiene el coloide y el medio líquido conjuntamente, en tanto que el coágulo no contiene más que el coloide sólido.

Todos los prótidos tienen un conjunto de reacciones de precipitación y de coloración. Sus disoluciones se precipitan principalmente con las de las sales de metales pesados (mercurio, zinc, plata, cobre, etc.), y también con el tanino, los ácidos fosfotúngstico y fosfomolibdico, los yoduros de mercurio y de bismuto, etc.

Las reacciones de coloración principales son la llamada de BIURET, la Xanto proteica, la de MILLON, la de HOPKIN COLE, etc.

Una de las más importantes es la producida con la ninhidrina que da coloración azul en medio neutro.

Pueden hidrolizarse por la acción de los ácidos, de los álcalis y de los fermentos llamados proteolíticos.

Las proteínas aisladas al estado de pureza nunca revelan el menor signo de actividad vital; cuando se les extrae del organismo y se les priva de su estructura peculiar se convierten en compuestos orgánicos inertes similares a las grasas e hidratos de carbono. Para que las proteínas puedan ser el substracto de los fenómenos vitales deben estar combinados íntimamente con otras muchas sustancias en primer lugar con lípidos.

No consignamos más detalles generales de estos cuerpos porque se encuentran fácilmente en todos los libros de Bioquímica.

CAPITULO II

ESTUDIO GENERAL DE LAS PROTEINAS VEGETALES

En el siguiente capítulo se hace una reseña de las proteínas reportadas hasta la fecha en los cereales y sus principales propiedades.

De los grupos de prótidos aceptados por las sociedades Americanas de Fisiología y Químicos Biólogos encontramos en las semillas de los cereales los representantes que señalaremos.

CLASIFICACION DE LAS PROTEINAS.

- I— Proteínas simples.
 - a) Albúminas.
 - b) Globulinas.
 - c) Glutelinas.
 - d) Protaminas.
 - e) Albuminoides.
 - f) Histonas.
 - g) Prolaminas.
- II— Proteínas complejas.
 - a) Núcleo proteínas.
 - b) Gluco proteínas.
 - c) Cromoproteínas.
- III— Proteínas derivadas.
 - I.— Derivados primarios.
 - a) Proteanas.
 - b) Metaproteanas.
 - c) Proteínas coaguladas.
 - II— Derivados secundarios.
 - a) Proteosas.
 - b) Peptonas.
 - c) Péptidos.

Los subgrupos de tal clasificación están confeccionados a base de la solubilidad, precipitabilidad, etc. de las proteínas; pruebas que no son muy satisfactorias ya que es difícil decidir si una proteína obtenida por medio precipitante es simple o mezcla de dos o más que tienen relación entre sí.

Por lo que respecta a su solubilidad puede decirse que no es prueba de homogeneidad ya que la extracción de la harina de trigo con soluciones de diferentes sales a la misma concentración no dan fracciones similares y la cantidad obtenida así como el carácter son marcadamente diferentes y de acuerdo con la definición de globulinas deberían de dar soluciones de fracciones idénticas.

Una clasificación perfecta de las proteínas debe fundarse en su constitución Química, es decir, en las relaciones cuantitativas de los ácidos aminados que las integran. Sin embargo, por no haberse llegado a tal perfección la clasificación de la Sociedad Americana de Fisiología y Químicos Biólogos se toma como correcta.

De las proteínas simples encontradas en las plantas ninguna ha sido reportada como perteneciente a los albuminoides, protaminas e histonas.

ALBUMINAS.—Por lo que se refiere a las albúminas vegetales es interesante hacer notar que dichas proteínas son de las que salen de las definiciones que fueron confeccionadas en conexión con las proteínas animales. Así por ejemplo, las albúminas animales no son precipitadas por saturación de sus soluciones con cloruro de sodio o con sulfato de magnesio, las albúminas vegetales tales como la leucosina del trigo, es precipitada por saturación con cualesquiera de las dos sales y son incluidas en este subgrupo bajo las bases de solubilidad en el agua y su coagulabilidad por el calor.

Debido a la pequeña cantidad de albúmina que se obtiene de algunas semillas, y la dificultad que presenta su completa separación de las globulinas, es causa de que la naturaleza albuminoidea de algunas no haya sido confeccionada.

Para extraerlas recomienda KLEIN tratar la harina con 4 partes de agua, dejando reposar de manera que se asiente el material insoluble, filtrar y adicionar sulfato de amonio hasta media saturación por lo cual precipita; la albúmina se filtra y se trata con gran cantidad de agua disolviéndose la mayor parte, la solución completamente clara se calienta a 65° C hasta coagulación y el producto se trata con agua caliente, alcohol-éter obteniéndose un polvo incoloro. La albúmina no coagulada en contrapeso con la coagulada, es soluble en agua y también en ácidos diluidos. La albúmina no coagulada se puede obtener de la solución acuosa a media saturación con sulfato de amonio.

GLOBULINAS.—El subgrupo de las globulinas de las plantas es sumamente extenso, encontrándose principalmente en las semillas como material de reserva.

La presencia de proteínas solubles en soluciones salinas fué primeramente reportada por DENIS encontrando que tales sustancias podían ser extraídas con soluciones de cloruro de sodio, más tarde WEYL estudió un número considerado de semillas observando que todas ellas contenían proteínas solubles en cloruro de sodio. También en este grupo encontramos diferencia con las de origen animal; ya que son incompletamente coaguladas por calentamiento de sus soluciones ácidas y en algunos casos no lo son.

Respecto a su comportamiento con las soluciones salinas saturadas las globulinas vegetales a diferencia de las de origen animal no precipitan por saturación de sus soluciones con sulfato de magnesio, siendo precipitadas con sulfato de sodio. Todas sin embargo, son precipitadas de sus extractos por dilución o diálisis, por lo cual son incluidas en este grupo, ya que el término globulina es asignado a aquellas proteínas que son insolubles en agua, pero fácilmente solubles en soluciones salinas diluidas, de las cuales son precipitadas por dilución o diálisis.

El método a base de saturación con sulfato de amonio utilizado por los químicos fisiólogos para diferenciar albúminas de globulinas no puede ser aplicado a las proteínas vegetales, ya que muchas de ellas, que son globulinas de acuerdo con la definición original, no son precipitadas a media saturación sino que lo efectúan a mayor concentración.

Las globulinas de las semillas pueden ser obtenidas por extracción con soluciones salinas neutras por ejemplo con cloruro de sodio al 5 o 10% y precipitación por diálisis. Hay que tener en cuenta que en estas extracciones las transformaciones que son susceptibles de sufrir en sus propiedades como por ejemplo en su solubilidad por ácidos encontrados en la misma semilla, lo mismo que por acción bacteriana, transformaciones que hay que evitar, disminuyendo la acidez del extracto y usando preservativos bacterianos. HAWK recomienda hacer la extracción de la harina de las semillas con solución de cloruro de sodio al 10% a 60° C, precipitación de las proteínas por dilución a temperatura de 60° y purificación de la misma por disolución en cloruro de sodio y precipitación por diálisis.

El miembro más bien conocido de este subgrupo es la edestina, obtenida de las semillas de trigo, cebada, avena, arroz, maíz, y principalmente del cáñamo.

Las semillas de las plantas parecen contener más de una globulina, así por ejemplo en el frijol RITTHAUSEN descubrió una globulina a la que llamó faseolina y que constituye un 20% y alrededor de un 2% de

otra globulina más soluble llamada faselina. Lo mismo podemos decir del maíz en el que OSBORNE reporta tres globulinas que difieren en sus propiedades

PROLAMINAS.—Son las proteínas más importantes de los cereales, habiéndose encontrado en todos aquellos con excepción del arroz, pudiendo decirse además, que son exclusivas de éstos, ya que no han sido reportadas en otras familias de plantas. EINHOFF fué el primero en describirlas en las semillas de centeno, TADDEI le dió el nombre del gliadina a la encontrada en el trigo, GORHAM reportó una proteína similar en el maíz a la cual llamó zeína.

Se propuso llamar a las prolaminas gliadinas pero debido a que este nombre es usado para designar una proteína obtenida del trigo, OSBORNE sugirió llamar a este grupo prolaminas

La característica de esta clase de proteínas es su solubilidad en alcoholes principalmente en alcohol de 85°, insoluble en agua y en alcohol absoluto.

GLUTELINAS.—Grupo que incluye aquellas proteínas insolubles en agua, soluciones salinas y alcoholes pero fácilmente solubles en álcalis diluidos.

La cantidad de glutelinas y prolaminas en los diferentes cereales varía; en el trigo encontramos cantidades iguales de las dos, formando la casi totalidad de lo que se conoce con el nombre de gluten. El maíz y avena contienen mayor cantidad de proteínas solubles en alcohol y menor cantidad de glutelinas, el arroz únicamente contiene glutelina. CSONKA y JONES han obtenido nuevas glutelinas de los cereales usando para la extracción, solución alcohólica de potasa y precipitando éstas por acidificación.

PROTEÍNAS CONJUGADAS.—De los representantes de estas proteínas es poca la información que se tiene respecto a su presencia en las plantas, nada escrito por lo que respecta a cereales.

Por lo que respecta a las núcleo proteínas, es frecuentemente anunciado como abundantes en las plantas, los compuestos no obstante encontrados en los núcleos de las células de las plantas y en el embrión de muchas semillas, no son según OSBORNE verdaderas núcleo proteínas sino que son ésteres o sales de proteínas y ácido nucleico, ya que según definición una verdadera núcleo proteína es aquella que sujeta a digestión péptica o tratada con medios hidrolíticos da como producto nucleína y proteína, esta nucleína después de tratamiento con álcali cáustico se fracciona en una segunda proteína y ácido nucleico y este a su vez en ácido fosfórico, hidrato de carbono y una base púrica o pirimídica; ninguna proteína de este tipo ha sido aislada de las plantas.

De las llamadas núcleo proteínas encontramos en las semillas de los cereales pequeñas cantidades, existiendo mayor abundancia en los tejidos del embrión que en el endospermo.

Experiencias hechas en la harina de maíz hacen suponer la existencia de lipo proteínas en las semillas de dicho cereal ya que si después de haber extraído completamente la grasa por medio del éter y se deja en reposo por varios días o se deja obrar sobre ella la tripsina, es posible volver a obtener por nuevo tratamiento con éter otra pequeña cantidad de grasa hecho que se conoce con el nombre de lipo fanerosis y que demuestra una unión floja entre lípidos y prótidos.

PROTEINAS DERIVADAS.—Este grupo incluye los productos de descomposición de las proteínas, obtenidas, ya sea por acción de agentes químicos, físicos o enzimas y está dividido en varios subgrupos de acuerdo con su complejidad, solubilidad de los productos, así en los derivados primarios la molécula proteica ha sufrido ligeros cambios no así en los derivados secundarios en los que la acción hidrolítica ha avanzado más.

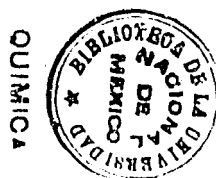
De los derivados primarios como es fácil suponer han sido obtenidos los representantes correspondientes; lo mismo se puede decir de los tres representantes de los derivados secundarios: proteosas, peptonas, péptidos; caracterizados los primeros por ser solubles en el agua, difusibles, no coagulables por el calor y precipitables por saturación con sulfato amónico; los segundos iguales que los anteriores pero no precipitables por el sulfato amónico, pero sí por ácido fosfo tungstico y los péptidos que son combinaciones de dos o más amino ácidos.

Las proteosas han sido dosificadas en ciertas semillas como el maíz por OSBORNE y los polipéptidos de la avena, trigo y maíz por JODIDI.

En el siguiente cuadro nos damos cuenta de las principales proteínas encontradas en los cereales:

PROTEINAS ENCONTRADAS EN LOS CEREALES

Cereal	Proteína %	Proteosa %	Albúmina %	Globulina %	Prolaminas %	Gliadinas %
MAIZ (ZEA MAYS)	9.36	0.06	—	maizina edeglob 0.39	zolina 5.0	glutolina 3.15
TRIGO (TRITICUM VULGARE)	11.41	0.21	Leucosina coagulium 0.39—0.27	0.63	gliadina 3.96	glutolina 4.68
CENTENO (SECALE CEREALE)	17.5-12.6	—	0.43	Leucosina oDESTINA proteosa 1.7	4.0	socalina 2.50



AVENA (AVENA SATIVA)	11.80	—	—	avenalina 1.50	glutina 1.50	avenina 4.0
CEBADA (HOREDEUM VULGARE)	9.12	—	leucosina 0.30	incluyendo proteosas 1.95	4.0	4.5
ARROZ (ORISA SATIVA)	7.0	—	0.04	0.14	0.0	6.0

Entre las proteínas reportadas en el maíz por WINTON se encuentra:

PROTEOSAS (solubles en agua)	0.060
GLOBULINAS (solubles en solución salina)	.00
MAISINA (coagulable)	.250
EDESTINA (casi no coagulable)	0.100
GLOBULINA (muy soluble)	0.040
ZEINA (soluble en alcohol)	5.00
GLUTELINA (soluble en alcohol)	3.150
PROTEINAS VERDADERAS	8.600

De estas la más importante es la zeina prolamina descubierta por GORHAM la cual constituye aproximadamente la mitad de las proteínas totales.

Existe una teoría llamada "SINTESIS PRIMARIA DE LAS PROTEINAS" que consiste en la formación de materias proteicas en las hojas de los vegetales a partir de las combinaciones inorgánicas del nitrógeno y de los productos de asimilación del carbono.

Este proceso sólo puede ser realizado por las plantas y su importancia para el reino animal no es menor que la que tiene la síntesis de los hidratos de carbono a partir de CO_2 H_2O .

El proceso reductor de los nitratos pasa a la formación de nitritos sales del ácido nitroso y el oxígeno que desprende no queda en libertad sino que es empleado para oxidar los compuestos orgánicos existentes en las células, es muy probable que los azúcares desempeñen el papel de receptores de oxígeno. Las formas activas de glúcidos elaboradas en el curso de la fotosíntesis favorecen particularmente la reducción de los nitratos; este proceso es regulado por una enzima especial del grupo óxido reductor. La reacción no finaliza al obtenerse nitritos sino que continúa hasta llegar al amoníaco, cuerpo que tampoco se concentra ya que se transforma en asparagina o reacciona directamente con ácidos hidroxilados que derivan de los hidratos de carbono durante la reducción de nitritos originando amino ácidos, estos mediante reacciones de condensación que se convierten luego en polipéptidos y finalmente en proteínas.

CAPITULO III.

CARACTERISTICAS GENERALES DE LA ZEINA Y SU COMPOSICION EN AMINO ACIDOS.

La zeina es la prolamina del maíz (ZEA MAYS). Las prolaminas se caracterizan por ser los únicos albuminoides solubles en alcohol, es necesario que la graduación del alcohol sea exactamente de 85° ya que a menor o mayor concentración la zeina es insoluble.

Se presenta como un polvo blanco ligeramente amarillento insoluble en agua y en éter.

La purificación de la zeina se ha logrado por medio de decolorantes sólidos por ejemplo: carbón activado, albúmina, bentonita, etc., seguido por un proceso de tratamiento con agente blanqueador por ejem: H₂O₂, NaHSO₃, Na₂S₂O₄, NaOCL, etc; ambas operaciones deben de practicarse a un pH de 1 y 12 y a 0°C, el tratamiento de decolorización debe ser por percolación.

El peso molecular de la zeina es aproximadamente de 40,000 carece de punto isoelectrico.

La zeina tiene .8065 de Nitrógeno y 5.000 de proteínas; en soluciones alcohólicas sufre la zeina transformaciones lentas formando una sustancia gelatinosa, transparente, no soluble en alcohol, por lo tanto conviene no dejar soluciones alcohólicas de zeina por mucho tiempo, por evaporación en agua o en alcohol muy diluidos la zeina coagula muy lentamente.

La rotación específica de la zeina dada por OSBORNE y HARRIS es en alcohol de 90° igual a 28° Kyeldahl, usando alcohol de 75° la rotación específica dada es de 35° Kyeldahl.

La molécula de las proteínas vegetales al igual que las de origen animal están esencialmente constituidas por asociaciones de moléculas más simples, los amino ácidos los cuales son los mismos a los encontrados en estos últimos y al igual que los de origen animal muestran difo-

rencias considerables entre ellos, pudiendo decirse que no existen dos iguales debido a que no todos contienen los mismos amino ácidos y la cantidad de cada uno de ellos es diferente.

Es importante por los motivos anteriores estudiar con particular atención la zeína ya que constituye más de la mitad de las sustancias nitrogenadas presentes en dicho grano.

LA LISINA Y EL TRIPTOFANO EN LA ZEÍNA.— La mayor importancia que tiene una proteína dedicada a la alimentación humana reside en la cantidad y calidad de sus amino ácidos componentes. Una buena proteína ha de contener todos los amino ácidos llamados indispensables y en la cantidad por lo menos necesaria para nuestra dieta.

Se llaman amino ácidos indispensables aquellos que el organismo humano no puede elaborar y por lo tanto tiene que recibirlos con las proteínas que le sirven de alimento; actualmente se sabe que son aproximadamente los siguientes todos ellos levógiros como son los naturales:

TRIPTOFANO	5 gm.
FENIL ALANINA	2.2 gm.
LISINA	1.6 gm.
TREONINA	1.0 gm.
VALINA	1.6 gm.
LEUCINA	2.2 gm.
METIONINA	1.4 gm.
ISO LEUCINA	1.4 gm.
HISTIDINA	1.9 gm.
ARGININA	0.4 gm.
ACIDO ASPARTICO	

Los tres últimos no se consideran como indispensables para el hombre siempre que la dieta de esta contenga los amino ácidos llamados dispensables.

En cuanto se refiere a la zeína, se ha discutido mucho si contiene o no el amino ácido llamado triptofano. Parece bien demostrado que no lo contiene aunque el grano de maíz si tiene mínimas cantidades de este amino ácido localizado principalmente en su subcutículo y no en su harina o parte feculenta.

En lo referente a la lisina todos los autores están conformes en admitir la ausencia total de dicho amino ácido tanto en la zeína como en el grano entero de maíz.

Tienen una gran importancia bromatológica estas observaciones por que el maíz constituye la base casi exclusiva de la alimentación de las clases populares mexicanas y se hace necesario suplementar esa alimentación con otros productos que contengan en la cantidad necesaria estos amino ácidos: lisina y triptofano que no tiene la zeína. Por otra

parte no debe olvidarse que el triptofano es positivamente el precursor de la vitamina P.P. o antipelagra llamada también niacina y por consiguiente los cuerpos que no contienen aquel ácido aminado no pueden ser materias productoras de esta importante vitamina.

En el siguiente cuadro nos damos cuenta de como algunos autores reportan alguna cantidad de un amino ácido y otros reportan cantidades diferentes como por ejemplo en el caso de la leucina.

Otros como THOMAS, SCHMIDT, JORDAN y MITCHELL no reportan datos de todos los amino ácidos encontrados en el maíz como la isoleucina y la treonina.

Tales deficiencias son debidas a que después de construídas las tablas se han venido descubriendo nuevos amino ácidos que anteriormente no se conocían y también a que algunos de ellos presentan dificultad para su dosificación ya que dichos métodos de dosificación son deficientes.

Por tales motivos fué necesario elaborar una tabla lo más completa posible; sin embargo, los datos deben apreciarse con determinado criterio, ya que como dijimos anteriormente los métodos de dosificación son deficientes y este es el motivo por el cual en algunas proteínas aparece solamente el 70% de amino ácidos y en otras proteínas la suma mayor es de 100%.

COMPOSICION EN AMINO ACIDOS DE LA ZEINA

Amino Acidos	M. Hamilton (1929)	Osborne (1910)	Thomas (1936)	Schmidt (1938)	Jordán. (1938)
GLICOCOLA	0.0	0.00	0.00	0.0	0.0
ALANINA	9.8	9.79	2.23	9.8	9.8
SERINA	1.0	1.02	—	1.0	1.0
VALINA	1.9	1.88	1.86	1.9	1.9
LEUCINA	25.0	19.55	—	25.0	25.0
ISOLEUCINA	—	—	6.22	—	—
FENIL ALANINA	7.6	6.55	5.35	7.6	5.0
TRIPTOFANO	9.17	0.00	0.04	0.2	0.2
TIROSINA	5.9	3.55	—	5.9	5.9
CISTINA	0.8	—	—	0.8	0.9
PROLINA	9.0	9.04	—	9.0	8.4
HIDROXI PROLINA	0.0	—	1.71	—	0.8
AC. ASPARTICO	1.8	1.71	3.11	1.8	1.8
AC. GLUTAMICO	31.3	26.17	30.82	31.3	31.3
HIDROXI GLUTAMICO	2.5	—	1.82	2.5	2.5

HISTIDINA	1.2	0.82	—	0.8	0.8
ARGININA	1.8	1.55	0.00	1.8	1.6
LISINA	0.0	0.00	—	0.0	0.0
METIONINA	2.5	—	—	2.3	2.2
HIDROXI VALINA	—	—	—	1.5	—
TREONINA	—	—	—	—	3.6
AMONIACO	—	—	—	—	102.7

HISTIDINA	1.2	0.82	—	0.8	0.8
ARGININA	1.8	1.55	0.00	1.8	1.6
LISINA	0.0	0.00	—	0.0	0.0
METIONINA	2.5	—	—	2.3	2.2
HIDROXI VALINA	—	—	—	1.5	—
TREONINA	—	—	—		3.6
AMONIACO	—	—	—		102.7

CAPITULO IV

EXTRACCIONES DE LA ZEINA DE DIVERSAS PROTEINAS Y RESULTADOS OBTENIDOS.

I.—EN HARINA DE MAIZ PEPITILLA.

Se trataron 100 gramos de harina de maíz procedente del grano total y obtenida en un molino adecuado para grano grueso y sin tamizar con alcohol de 85° (como la graduación del alcohol del comercio resultó ser de 92° fué necesario ajustar la concentración del alcohol a 85° ya que como se ha dicho en capítulos anteriores la zeína solamente es soluble en ese alcohol) agitando a intervalos y dejando reposar toda la noche; al día siguiente se decanta y filtra el líquido alcohólico. Tal tratamiento con alcohol de 85° se repitió hasta que una gota del filtrado no precipitó al añadir 10 veces su volumen de una solución de cloruro de sodio al 1% lo cual demostraba que ya no había zeína en dicha harina ya que como dijimos anteriormente esta clase de proteínas precipitan en presencia de solución salina a esa concentración.

Los líquidos alcohólicos resultantes de la extracción se destilaron a baño maría hasta recuperación del alcohol; al líquido restante en el matraz se le hizo pasar una corriente de aire en el mismo aparato para lograr su consistencia jarabosa. A esta substancia jarabosa se le adicionó 10 veces su volumen de agua conteniendo una pequeña cantidad de cloruro de sodio, con lo cual se precipita la zeína, el líquido sobrenadante fué decantado, tratando la zeína con alcohol de 85° con lo que se disolvió, volviéndola a precipitar por adición de una mezcla alcohol-éter (1:2). La zeína obtenida se filtra y seca.

La cantidad de alcohol utilizada para hacer la extracción fué de 1500 obteniéndose 5 gms. de zeína % de harina seca.

Con la técnica seguida por el Dr. CRAVIOTO que es muy parecida a la que acabamos de describir se obtiene un rendimiento idéntico y

creemos que el método que seguimos es el que da mejores resultados. Sin embargo, hemos ensayado otros diversos partiendo de distintas primeras materias.

Es necesario no olvidar que las distintas variedades del maíz pueden dar diversos rendimientos en zeína aunque las variaciones sean muy pequeñas.

II.—EN HARINA DE NIXTAMAL O NIXHARINA.

100 gramos de harina de nixtamal adquirida en el comercio y bien seca fueron tratados con alcohol de 85° siempre a la temperatura ordinaria agitando de vez en cuando y dejando reposar durante la noche. Al día siguiente se decanta y filtra el líquido alcohólico; este tratamiento con alcohol se repite hasta agotamiento total de la zeína de modo análogo al método antes descrito.

La recuperación del alcohol y la precipitación de la zeína se hace como en el método 1.

La cantidad de alcohol utilizada fué de 800 cc y el rendimiento de zeína fué de 2.2. gramos.

Como puede verse el rendimiento es mucho menor que el que da la harina total; posiblemente esto es debido a que el nixtamal se obtiene a partir de la harina sometiéndola a un tratamiento con hidróxido de calcio, y es bien sabido que las bases alcalinas y alcalinotórricas se combinan con las proteínas originando compuestos insolubles tanto en agua como en alcohol. Por consiguiente el tratamiento del nixtamal con el alcohol de 85° deja de extraer una buena parte de la zeína porque ésta ya se encuentra al estado, podemos decir de zeínato cálcico.

III.—EN GLUTEN DE MAÍZ (EN FRÍO).

Dicho gluten de maíz fué adquirido en el comercio y es el residuo que queda después de separar a la harina la mayor parte de su fécula, y fué necesario triturarlo hasta polvo grueso, secarlo y pulverizar hasta obtener polvo fino el cual no se tamizó.

Este gluten en esas condiciones tiene dos clases de impurezas: el almidón que no interfiere en la extracción de zeína, y la grasa que si es necesario eliminar para lo cual se procedió a su extracción con el éter de petróleo y posterior recuperación del éter.

El gluten ya desengrasado se secó y pulverizó y se procedió a tratarlo como si fuera harina de maíz, haciendo las extracciones con alcohol de 85° hasta agotamiento total de la zeína. La recuperación del alcohol y la precipitación de la zeína se llevan a cabo como en el método 1.

El alcohol empleado fué de 1250 cc y el rendimiento fué de 5.5 gm. %. Como se ve el rendimiento es análogo al que da la harina total y

debiera haber sido mayor por que esa harina se encuentra ya desprovista de grasa y de una buena parte de su fécula integrante. Este método lo seguimos pensando en que el citado gluten que es una materia residual en la industria almidonera pudiera aprovecharse para la extracción de la zeína.

IV.—EN GLUTEN DE MAIZ (EN CALIENTE).

100 gramos de gluten previamente desengrasados se trataron con 1500 cc de alcohol de 85° y se reflujaron a baño de María durante 12 horas.

El líquido alcohólico se filtró y destiló hasta recuperación del alcohol con lo que precipitó la zeína.

El rendimiento fué de 10.3 gm.

Este rendimiento ha sido el mayor que hemos encontrado entre las diversas primeras materias ensayadas y lo atribuimos a esta suave hidrólisis a que hemos sometido el citado gluten por que todos los principios inmediatos se encuentran asociados entre sí en los productos naturales y por hidrólisis suave se desdoblán estas asociaciones.

V.—EN EL GLUTEN DE MAIZ CON FORMAMIDA.

La formamida es el primer término de la serie homóloga de amidas acíclicas $HCO NH_2$, es un líquido de punto de solidificación de 2° C; a la presión ordinaria hierve a 193° C descomponiéndose fácilmente a esa temperatura, su densidad es de 1.139. La formamida es soluble en agua, alcohol, cloroformo, benceno y otros líquidos orgánicos, pero lo más notable de sus solubilidades es que posee un poder manifiesto como disolvente de muchos cuerpos lo cual permita separar una substancia de otra aprovechando sus distintas solubilidades en formamida.

Por lo que se refiere a las proteínas algunas son solubles y otras no, de ahí nace la importancia de la formamida para poderlas separar.

Se trataron 100 gm. de gluten previamente desengrasados y secos con dos litros de ácido clorhídrico normal y se llevaron a B. M. por dos horas procurando que no hirviera el líquido interno, al cabo de ese tiempo se enfrió la muestra y se filtró recogiendo el precipitado.

La hidrólisis de dicho gluten se efectuó para eliminar el almidón.

El hidrolizado ya seco y pulverizado se trató con 125 cc de formamida se agitó numerosas veces y se le adicionó agua para poder filtrar. El filtrado se destiló a baño de arena recuperando el agua y después la formamida precipitando en el matraz la zeína.

El rendimiento fué de 1.3 gramos %.

No nos dió la formamida como disolvente de la zeína todo el resultado que esperábamos, aunque el rendimiento fué bastante bueno.

La parte feculenta que contiene el gluten no es tampoco totalmente insoluble en formamida.

En la actualidad métodos prácticos de peptización de harina de cacahuete y deshidratación y secado del residuo agotado han sido investigados. El dato obtenido es aplicable a sistemas de peptización de corriente medida. El producto de proteínas fué mejorado por las sucesivas peptizaciones y por la pulverización del producto antes de la peptización.

Peptizaciones sucesivas dan un resultado de 46.5% que es comparado con 36.4% dato que resulta de un sistema de lavado a presión.

No se ha aplicado este interesante método todavía a la extracción de la zeína pero creemos que pudiera ser muy importante ensayarlo en los residuos que contienen el gluten de maíz con restos importantes de fécula.

CAPITULO V.

CANTIDAD DE FENIL ALANINA EN DIVERSOS PRODUCTOS.

LA FENIL ALANINA es un amino ácido que se encuentra ampliamente distribuido tanto en proteínas de origen animal como en proteínas de origen vegetal.

La presencia de este amino ácido es indispensable, así lo demuestran las experiencias de ROSE (1937).

A continuación se tienen los datos más aproximados de fenil alanina en diversas proteínas calculadas por los métodos de: KAPPELLER ADLER, MILLON y FOLIN. Estos resultados están dados en %.

FENIL ALANINA EN:

Gelatina	0.3 a 2.3%
Elastina	3.1 a 3.7%
neurogelatina	4.7%
gelatina de pescado	1.9%

FENIL ALANINA EN ANIMALES ENTEROS:

Rata (2 días)	3.5
Rata (23 días)	4.3
Rata (100 días)	3.8
Rata (18 meses)	4.3%

FENIL ALANINA EN FIBRINA DE:

buey de 2 a 8.5%

FENIL ALANINA EN HEMOGLOBINA DE:

caballo	3.4 a 6.8%
puerco	6.3%
buey	6.8%

borrego	6.9%
tortuga	7.0%

FENIL ALANINA EN GLOBINA:

de buey	6%
humana	7.8%

FENIL ALANINA EN SERO ALBUMINAS:

Humana	7.9%
--------------	------

FENIL ALANINA EN SERO GLOBULINAS:

de caballo	3.8%
Humana	5.0 a 6.8%

FENIL ALANINA EN SERO PROTEINAS:

Humana	5.4%
--------------	------

FENIL ALANINA EN SUERO PATOLOGICO HUMANO Y PROTEINAS DE LA ORINA:

Suero	6.0%
orina	1.5%

FENIL ALANINA EN ESTROMA Y EN PROTEINAS DE LAS CELULAS:

Humana	8.5%
--------------	------

F. A. EN PROTEINAS DEL CEREBRO HUMANO:

infección	5.3 a 6.8%
hemorragia	4.0 a 5.3%
suicidio	4.8 a 5.8%
alcoholismo	4.8 a 5.6%
arterio esclerosis	5 a 5.7%
idiotéz amaurotica	6.4%
diabetes	5.0%

F. A. EN PROTEINAS DE CEREBRO DE ANIMAL:

Mono macho	4. a 5.4%
mono hembra	3.8 a 4.7%
borrego macho	4.2 a 5.1%
borrego hembra	4.5 a 5.1%
rata	3.7 a 5.3
buey	4.1 a 5.4
puerco	4.9 a 5.4
conejo	4.1
gato	4.1

perro	4.0
rana	4.2

FENIL ALANINA EN:

albúmina de huevo cristalizada	5.3 a 7.9
--------------------------------------	-----------

F. A. EN PROTEINAS DE HUEVO OTRAS QUE LA ALBUMINA:

vitalina	2.5 a 3
clara de huevo	5.5
yema	5.7
huevo entero	5.9
ovomucoide	5.0

F. A. EN ALIMENTOS:

pan	4.8 a 5.3
harina	5.5
cereal	2.8 a 5.6
harina de soya	3.8
harina de lupino	4.5
retazos de carne	4.5
residuo de grasa	6
pescado	4.8
gelatina de pescado	1.9

F. A. EN EUKERATINAS DE:

pelo humano	2.7
lana de borrego	4.2 a 1.5
pelo de puerco	3.3
pelo de chivo	4.5
cuerno de buoy	2 a 4
cuerno de rinoceronte	5.1
lomo de puerco	3.7
pico de ganso negro	7.2
pico de iguana	4.9
plumas de gallina	5.5
púas de puerco espin	3.6
púas de ornitorrinco	7.2

F. A. EN PIEL Y NEUROKERATINAS DE:

piel de culebra	4.1
caparazón de tortuga	5.9
excrescencias del pelicano	4.9
piel de ballena	3.2
neurokeratina	5.2

tripsina	7.2
pepsina	7.2
papaina	4.8

FENIL ALANINA EN:

gorgonia	6.5
plouzarolla	7.6
ospongina	4.1
fibrina de seda	1.3

F. A. EN PROTEINAS DE HIGADO DE:

vaca	6.1 a 7.3
albúmina de gato	4.4
globulina de gato	4.7
gato entero	4.6
humano	7.3
bacalao	5.8

F. A. DE CASEINA DE LECHE DE VACA:

De 2.4 a 6.3.

F. A. EN CASEINA DE LECHE HUMANA:

2.9

F. A. EN LACTOALBUMINAS:

vaca	1.3 a 5.6
------------	-----------

F. A. EN PROTEINAS DE LECHE OTRAS QUE LA CASEINA Y LA LACTO ALBUMINA:

LACTO GLOBULINAS	5.3
leche entera	5.3 a 6.1
leche entera humana	5.9

F. A. EN PROTEINAS DE MUSCULO DE PISCADO:

bacalao	1.3 a 4.3
sábalo	4.8
hipogloso	3.0
salmón	4.5

F. A. EN PROTEINAS DE CRUSTACEOS:

camarón	4.8
concha	4.6

F. A. EN PROTEINAS DE CUERPOS AUTOTROPICOS (ALGAS)

phormidium	2.1
Ulva	4.3
laminaria	1.9

Sargassen	0.6
Chondrus	2.8

F. A. EN SUBSTANCIAS BIOLOGICAMENTE ACTIVAS:

Gramicidina	0.0
Tirosidina	24.0
Enzima amarilla	5.6

F. A. EN PROTEINAS DEL GRANO DE MAIZ DISTINTAS A LA ZEIN

maiz blanco entero	5.0
maiz amarillo entero	4.0
gluten blanco	6.8
gluten amarillo	6.4
harina de gluten	6.7
gluten soluble en sosa	1.7
germen blanco	5.6
germen amarillo	5.5
residuo de la zeína	4.5
albúmina amarilla	1.7

F. A. EN EDFSTINA:

2.1 a 3.4.

F. A. EN GLIADINA:

2. a 2.4

F. A. EN PROTEINAS DE HOJAS:

alfalfa	4.5
---------------	-----

F. A. EN PROTEINAS DE PLANTAS MISCELEANAS:

globulinas de semilla de algodón	3.4 a 8.1
harina de semilla de algodón	6.8
harina de lentejas	5.6
harina de cacahuete	5.4
cacahuete Arachin	5.5
harina de soya	3.6 a 5.7
horda de cebada	5.1
harina de semilla de lino	6.0
harina de lupino	4.5
harina de avena	7.3
arroz	6.3

F. A. EN VIRUS:

virus del mosaico tabaco	6. a 6.7
virus amarillo ancuba	6.3

virus verde ancuba	6.1
virus J 14 D. 1	6.1
virus cucumber 4	10.2
virus cucumber 3	10.0

F. A. EN PROTEINAS DEL TRIGO OTRAS QUE LA GLIADINA:

trigo entero	5.7
harina de trigo	5.5
gluten entero	4.1
glutenina	1.8
germen	4.2
germen leucosina	3.6

F. A. EN PROTEINAS DE LEVADURA Y HONGOS:

de cerveza	3.5 a 4.5
de hornear	3.9

F. A. EN ZEINA:

6.9, 7.6, 5.0, 6.5, 4.9, 6.6, 7.5, y 6.4.

F. A. EN PROTEINAS DE DIVERSOS TEJIDOS Y ORGANOS DE VACA:

riñón	5.5
pulmón	4.7 y 4.1
pancreas	4.4
glándulas salivales	3.6
timo	3.3
ovario	4.8
tosta	5.5
corazón	5.1 a 5.7
intestino	4.8
estómago	3.3

CAPITULO VI

DETERMINACIONES CUANTITATIVAS PRACTICADAS. CRITICA DEL METODO Y DETALLES DEL QUE SEGUIMOS.

De todos los amino ácidos integrantes de la zeína nos hemos fijado principalmente en la fenil alanina. En el laboratorio donde se practicó esta tesis se hicieron determinaciones de: tirosina, triptófano, treonina, valina, y algunos otros amino ácidos; y por consiguiente en la tesis correspondiente se consignan todos los detalles correspondientes a los cuantos de estos amino ácidos.

Nosotros hemos seleccionado a la fenil alanina por que es uno de los amino ácidos llamados indispensables, es decir que necesitan ser ingeridos con la alimentación por que el organismo humano es incapaz de sintetizarlos *in vivo*. Por otra parte sabemos que la zeína está exenta de triptófano y lisina que son también amino ácidos indispensables. KAPPELLER ADLER idearon la simplificación del proceso de oxidación SHULZE KOLLMANN para la determinación de la fenil alanina por el uso del ácido benzoico acordado por MOHLER.

El método de MOHLER consiste en nitrar el ácido benzoico con nitrato de sodio en ácido sulfúrico fumante para dar el ácido 3-6 - dinitro benzoico acordado por KAPPELLER ADLER y por BLOCK Y BOLLING.

Como veremos posteriormente KAPPELLER y ADLER encontraron que la fenil alanina no era oxidada y la nitración era esperada en el ácido 3-5 dinitro benzoico.

I.—ESTIMACION DE LA FENIL ALANINA ACORDADA POR KAPPELLER ADLER.

1.—HIDROLISIS.—Hidrolizar de 1.5 a 3 gramos de proteína por 20 horas con solución de ácido sulfúrico al 25%. Diluir la concentración del sulfúrico a 10%.

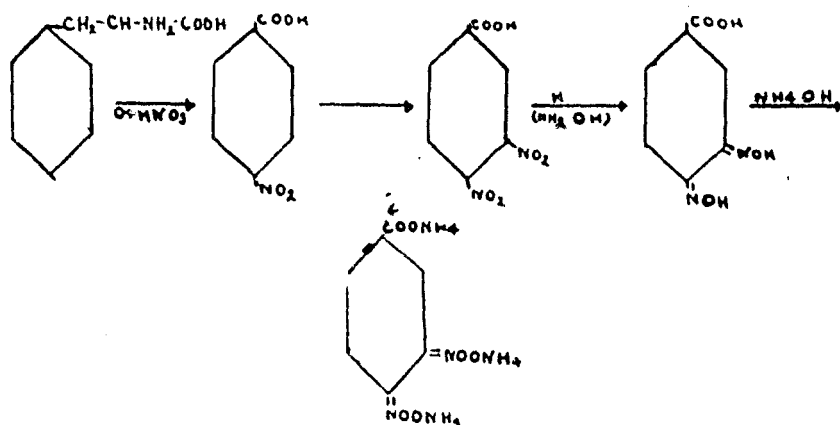
2.—PRECIPITACION DE HISTIDINA.—Precipitar la histidina de la sustancia hidrolizada con una solución al 10% de ácido fosfo túngstico en ácido sulfúrico. Eliminar cualquier exceso de reactivo.

3.—DESTRUCCION DE LA TIROSINA.—Adicionar una pequeña cantidad de solución. IN de permanganato de potasio a 20 ml. de una solución de histidina libre, la cual contiene de 1 a 4 miligramos de fenil alanina. Evaporar la solución en B. M. Adicionar más permanganato si es necesario.

4.—OXIDACION Y NITRACION.—Concentrar a consistencia de jarabe, enfriar, y adicionar dos ml. de nitrato de potasio al 10% en ácido sulfúrico concentrado. Calentar sobre el baño de vapor por 20 minutos, enfriar y transferirlo a un matraz de 25 ml. que contenga 7 ml. de agua. Enfría a 0°C.

5.—DESARROLLO DEL COLOR.—Adicionar 5 ml. de una solución al 15% de clorhidrato de hidroxil amina y después diluir a la marca con amoníaco concentrado. Después de que el N ha cesado de desprenderse poner el matraz en un baño de agua a 40° C por 5 minutos, enfriar a 0°C por 15 minutos y leer.

MECANISMO DE LA REACCION:



MODIFICACION DEL METODO DE KAPPELLER ADLER POR KUHL Y DESNUELLE'S.

PRINCIPIO.—La remoción de la histidina y la destrucción de la tirosina puede omitirse en el método de Kapeller Adler. El color final se lee en un fotocolorímetro con un filtro apropiado. Acido ascórbico se usa como agente reductor.

METODO.—A una parte alícuota del hidrolizado de proteínas que contenga de 1 a 4 mg. de fenil alanina se evapora a sequedad, se enfría y se le adiciona 2 ml. de una solución al 10% de nitrato de potasio en áci-

do sulfúrico concentrado y la nitración es llevada aparte por el calentamiento en baño de vapor por 20'. El residuo es disuelto en 9 ml. de agua. La solución se hace alcalina con amoníaco, se enfría, y se adicionan 0.5 ml. de una solución de ácido ascórbico al 1% recientemente preparada. La solución se diluye con amoníaco concentrado hasta 25 ml. y se hace la lectura con filtro 530 (verde) del fotocolorímetro KLETT SUMMERSON.

COMENTARIO.—Se cree que el color producido en una mezcla de mucho para y poco de orto nitro fenil hidroxil amina en la forma de sal mono alcali.

METODO DE BLOCK BOLLING'S ADAPTACION DEL METODO DE KAPPELLER—ADLER, KUHN.

Hemos seleccionado este método por que tiene muchas ventajas sobre todos los conocidos para el cuanteo de fenil alanina. Con relación a los dos descritos anteriormente resulta mucho más rápido e igualmente exacto.

METODO.—Porciones alícuotas del hidrolizado tanto de fenil alanina tipo como de las zeínas problemas son evaporadas a sequedad a B. M. en cápsulas de porcelana. Enfriar las cápsulas en hielo y adicionar a cada una de ellas 2 ml. de una solución de nitrato de potasio al 20% en ácido sulfúrico concentrado, llevarlas a baño de vapor durante 20' para que la nitración sea completa.

Enfriar a 0° C y adicionar 2 ml. de una solución de clorhidrato de hidroxil amina al 30%. Enfriar con hielo y diluir con amoníaco concentrado hasta completar 25 ml. Dejar desarrollar el color durante 45' a la temperatura del laboratorio, filtrar y hacer la lectura con el filtro verde en el fotocolorímetro de KLETT SUMMERSON.

Con las lecturas obtenidas de las soluciones de fenil alanina tipo construir una gráfica y sobre esta gráfica llevar las lecturas problemas para sacar un porciento en fenil alanina.

COMENTARIOS

BLOCK Y BOLLING'S REPORTARON que sólo aproximadamente 25 a 30% de la fenil alanina presente en la mezcla de amino ácidos es nitrada a ácido 3-4 dinitro benzoico.

En proporción de las desventajas que existen para dosificar amino ácidos el método anterior es el mejor de las variaciones del momento, excepto desde luego los métodos muy especiales que emplean isótopos.

Una de las mayores influencias en la dosificación de la fenil alanina son las condiciones en que se efectúa la hidrólisis de la muestra.

CAPITULO VII.

RESULTADOS OBTENIDOS Y CRITICA DE ELLOS.

Se procedió en primer lugar a la construcción de una gráfica tipo partiendo de una solución de fenil alanina de concentración conocida obteniéndose para dichas concentraciones las siguientes lecturas:

CONCENTRACIONES	LECTURAS
140 mg.	49
120 mg.	42.4
100 mg.	35.0
80 mg.	28.2
60 mg.	20.8
40 mg.	14.2
20 mg.	7.1

Como puede observarse en la gráfica resulta una línea recta la cual demuestra que la reacción sigue la ley de BEER y es por lo tanto utilizable para nuestras determinaciones.

Las lecturas obtenidas de la zeína de la harina de maíz fueron de: 45, 38, y 30. Que llevadas sobre la gráfica tipo dan un resultado de 5.0% de fenil alanina.

Las lecturas de la zeína del gluten de maíz fueron: 35, 30, 24; que llevadas a la gráfica tipo dan una concentración de 6.3% de fenil alanina.

Como puede observarse los resultados obtenidos por nosotros se encuentran dentro de las cifras que se consignan en el cuadro correspondiente y que figuran en el libro de BLOCK BOLLING'S.

La cantidad mayor de fenil alanina encontrada en el gluten es bien significativa.

CAPITULO VIII.

RESUMEN Y CONCLUSIONES

1.—Hemos hecho un estudio completo de los diversos métodos de extracción de la zeína a partir de primeras materias que pueden considerarse como residuales en diversas industrias Mexicanas.

2.—También hemos utilizado el método fundado en la solubilidad de la zeína en formamida sin que los resultados hayan sido muy satisfactorios.

3.—Hemos llevado a cabo un estudio completo de la citada proteína recopilando datos consignados en los libros y practicando otros varios por nosotros y que podemos considerar como originales.

4.—Hemos cuantado la cantidad de fenil alanina que contenían las diversas zeínas que hemos obtenido.

5.—Consideramos que nuestro trabajo es una aportación interesante al estudio del maíz que es la base de la alimentación popular en nuestro país.

CAPITULO IX.

BIBLIOGRAFIA

- 1.—GIRAL ROJHAN-PRODUCTOS QUIMICOS Y FARMACEUTICOS — 1946, Pág. 2069.
- 2.—CHEMICAL ABSTRACTS — Volumen 45, 1951, Pág. 7278.
- 3.—CRAVIOTO O RENE — Compuestos nitrogenados del maíz (tesis), 1941, Págs. 16, 22, 25.
- 4.—R. BLOCK y D. BOLLING. The amino acids compositions of proteins and foods 1948, Págs. 107 a 141.
- 5.—BENJAMIN HARROW — Tratado de Bioquímica 1950, Pág. 46, 622.
- 6.—CARL A L. SCHMIDT. The chemistry of the amino acids and proteins 1944, Págs. 1247, 1104, 1106, 1119.
- 7.—MAXIMOV — Fisiología vegetal 1948, Págs. 45, 203.
- 8.—INDUSTRIAL ENGINEERING CHEMISTRY 1952, Pág. 90.
- 9.—GARCIA TELLEZ DOLORES — La levadura de cerveza como alimento humano (tesis) 1949, Pág. 8.
- 10.—DR. JOSE GIRAL, Ciencia e investigación 1949, Pág. 6.

DETERMINACION DE FENIL ALANINA

