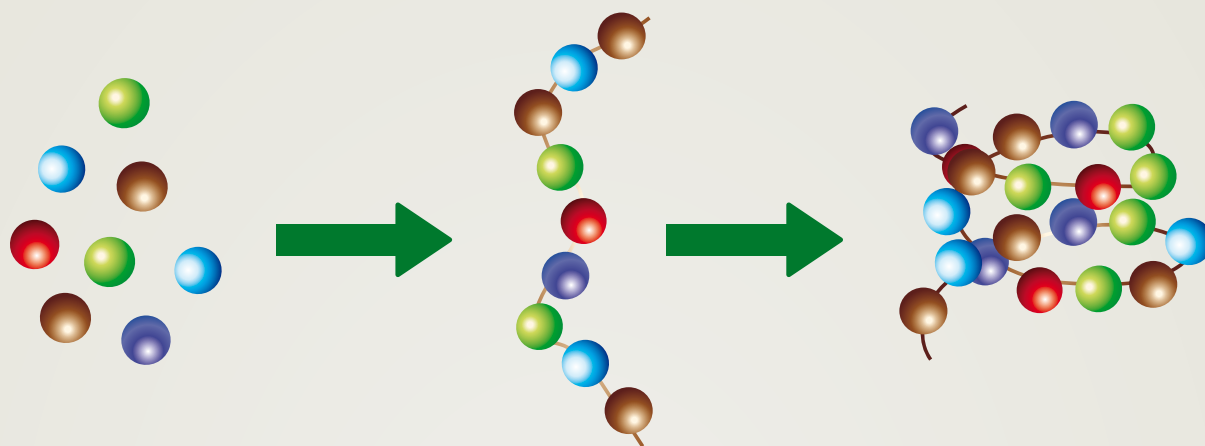


HIDROLIZADOS DE PROTEÍNAS



Hidrolizados de proteínas

Las proteínas son macromoléculas que consisten en la unión de moléculas más pequeñas, llamadas aminoácidos, que se disponen en secuencia para formar largas cadenas plegadas sobre sí mismas, que se denominan cadenas polipeptídicas.



AMINOÁCIDOS

PÉPTIDO

PROTEÍNA

Los **hidrolizados de proteínas** son productos derivados de la hidrólisis de las proteínas que, cuando se aplican a los cultivos, mejoran su rendimiento productivo y cualitativo. Están compuestos por fracciones de proteínas de diferente longitud (aminoácidos libres, oligopéptidos, polipéptidos) que, de forma más o menos directa, influyen en diferentes procesos fisiológicos de las plantas mejorando su desarrollo radicular y vegetativo, la tolerancia al estrés abiótico, la floración, el cuajado, el desarrollo de los frutos y también la calidad final.

Los aminoácidos libres y los oligopéptidos, estos últimos a menudo simplemente llamados "péptidos", debido al número limitado de aminoácidos de los que están compuestos, son identificables como "**oligómeros**", mientras que los polipéptidos y las proteínas como "**polímeros**".

El efecto sobre las plantas puede ser múltiple, dependiendo de la longitud de las fracciones de proteínas (aminoácidos libres, oligopéptidos, polipéptidos) y, por lo tanto, de su peso molecular.

- Los polipéptidos, que son fracciones formadas por unos 50-100 aminoácidos, con un peso molecular entre 5.000 y 10.000 Da (Dalton), son utilizados por las plantas para una función principalmente **nutricional** y normalmente se aplican por **vía radical**;
- Los oligopéptidos, que son fracciones formadas por unos pocos aminoácidos (< 50), con un peso molecular inferior a 5.000 Da (Dalton), y los aminoácidos libres, presentes en forma individual, son utilizados por las plantas tanto para una función **nutritiva** como **bioestimulante** y se aplican por vía **foliar y radical**.



*Funciones de los
principales aminoácidos
para las plantas*

Los aminoácidos (AA) presentes en las proteínas de **todos los organismos vivos** (AA proteicos) son 20 y, entre estos, algunos intervienen de manera positiva en varios procesos metabólicos importantes, como se informa de manera sintética en el cuadro que figura a continuación:

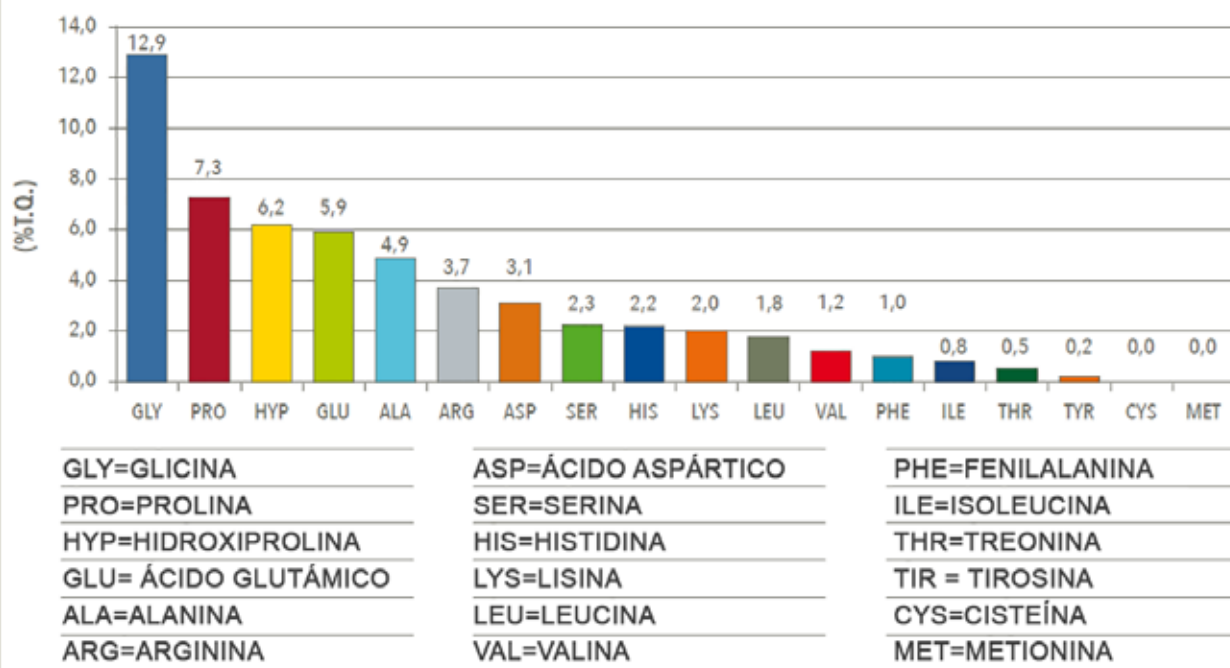
| PROCESO FISIOLÓGICO | AMINOÁCIDOS PRESENTES |
|------------------------------|--|
| Estímulo de la fotosíntesis | Prolina, Ácido Glutámico, Glicina, Alanina, Lisina |
| Apertura de los estomas | Prolina, Ácido Glutámico, Alanina, Metionina, Lisina |
| Acción antioxidante | Serina, Lisina, , Histidina, Metionina, Cisteína |
| Acción complejante | Ácido Glutámico, Glicina, Ácido Aspártico |
| Germinación del polen | Ácido Glutámico, Prolina |
| Precusores de los aromas | Leucina, Isoleucina, Alanina, Valina |
| Precusores de las hormonas | Metionina, Triptófano |
| Precusores del color | Serina, Fenilalanina |
| Precusores del sabor | Prolina, Glicina, Alanina, Arginina |
| Regulación de la osmosis | Prolina |
| Resistencia contra el estrés | Serina, Prolina, Ácido Glutámico, Valina, Lisina, Cisteína |
| Síntesis del ADN | Ácido Glutámico, Ácido Aspártico |
| Síntesis de las proteínas | Ácido Glutámico |



*El aminograma, una
información importante
para saber*

El aminograma de un hidrolizado de proteínas, es decir, el tipo y la cantidad de cada aminoácido presente, **es un primer dato importante que hay que conocer**. De hecho, cuanto más diferentes tipos de aminoácidos estén presentes, más completa será la acción del hidrolizado de proteínas sobre los diferentes procesos metabólicos de la planta.

La mayor presencia de algunos aminoácidos, además, indica una mejor acción sobre los principales procesos fisiológicos: por ejemplo, la prolina, la glicina, el ácido glutámico, la alanina, la arginina y el ácido aspártico son los aminoácidos siempre presentes en todos los procesos del metabolismo primario de las plantas, ya que influyen positivamente en la fotosíntesis, la síntesis de proteínas, la síntesis de ADN, etc..



*La materia prima y el
proceso de producción
determinan la mayor
efectividad en la planta
y la mejor calidad del
hidrolizado de proteínas*

Materia prima

Lo que distingue a un hidrolizado de proteínas de otro y lo hace más eficaz en las plantas y de mejor calidad es la combinación "**materia prima - proceso productivo**".

La combinación de estos dos factores determina el tipo de aminoácidos presentes, la longitud de las fracciones de proteínas, la configuración de los aminoácidos libres y las demás características químico-físicas de los productos

Las materias primas proteínicas de origen natural, tanto animales como vegetales, contienen hasta 20 aminoácidos diferentes (AA proteicos), presentes en proporciones variables según su origen.

Dependiendo de la materia prima, algunos aminoácidos pueden ser predominantes y otros pueden estar menos presentes. **Este es un factor característico que permite comprender cuál es la materia prima de origen de un determinado hidrolizado de proteínas.** Por ejemplo, los hidrolizados de proteínas obtenidos del colágeno contienen una mayor concentración de glicina, prolina e hidroxiprolina, mientras que los de origen vegetal, obtenidos de las legumbres, contienen altas concentraciones de triptófano y lisina.

En el cuadro que figura a continuación se muestran los principales aminoácidos presentes en las diferentes materias primas utilizadas para la producción de hidrolizados de proteínas:

| MATRIZ PROTEICA | MATERIA PRIMA | AMINOÁCIDOS CARACTERÍSTICOS |
|---|---------------|-----------------------------------|
| ORIGIN ANIMAL | | |
|  | Colágeno | Glicina, Prolina, Hidroxiprolina |
| | Queratina | Cisteína, Serina |
| ORIGIN VEGETAL | | |
|  | Cereales | Metionina, Cisteína |
| | Legumbres | Triptófano, Lisina |
| OTRO | | |
|  | Levaduras | Ácido Glutámico, Ácido Aspártico |
| | Microalgas | Ácido Glutámico, Leucina, Alanina |



Proceso productivo

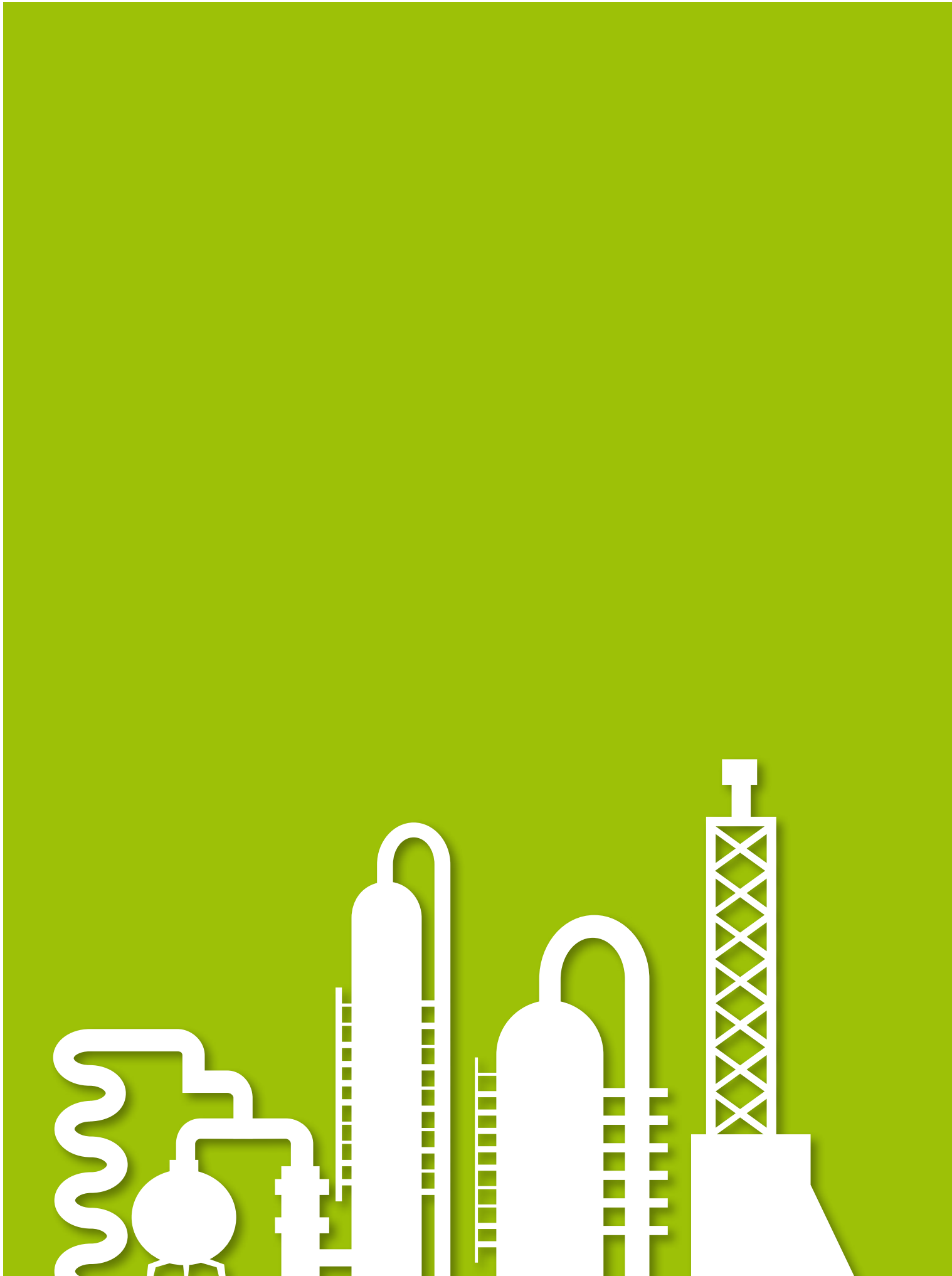
Los hidrolizados de proteínas se obtienen a través de un proceso de hidrólisis en el que las largas cadenas polipeptídicas de las proteínas son cortadas por el agua y otras sustancias y/o agentes y/o calor que reaccionan. Este proceso puede lograrse de varias maneras:

- Hidrólisis térmica;
- Hidrólisis química;
- Hidrólisis enzimática;
- Hidrólisis mixta.



En la hidrólisis térmica, el calor se utiliza para cortar las cadenas de proteínas, por lo que el corte de los enlaces peptídicos entre las proteínas es débil y se produce de forma aleatoria. El resultado es la formación de un hidrolizado de proteínas dentro del cual las cadenas de aminoácidos son todavía bastante largas (polipéptidos, con más de 50 aminoácidos), por lo que la función del hidrolizado es principalmente **nutricional**. Generalmente, este tipo de hidrólisis se utiliza para la producción de hidrolizados de proteínas sólidas para su aplicación en el suelo, donde la materia orgánica y los polipéptidos son mineralizados por la microflora del suelo, para poner a disposición de las plantas el nitrógeno y otros elementos de manera gradual.





La hidrólisis química es un proceso en el que, para romper las cadenas proteínicas, se utilizan ácidos o bases fuertes (ácido sulfúrico, hidróxido de sodio), obteniendo así un ambiente muy ácido o muy básico y que tiene lugar a alta temperatura para acelerar el tiempo de reacción. El resultado es la formación de un hidrolizado de proteínas con una mayor presencia de oligopéptidos (fracciones de proteína muy pequeñas) y aminoácidos libres (forma individual), en comparación con los tipos de hidrólisis, pero que no es muy estable. Al final del proceso, se añaden ácidos o bases para que el producto obtenido vuelva a tener un pH neutro y pueda aplicarse a las plantas, **pero esto da como resultado una alta salinidad del producto final**. Además, se añaden conservantes para estabilizar la formulación y **aumentar su conservación**, lo que afecta a sus características químico-físicas y limita su miscibilidad.



A pesar del alto grado de hidrólisis y la consiguiente formación de muchos aminoácidos libres, la hidrólisis química causa un porcentaje consistente de "racemización" de los aminoácidos libres que se forman, es decir, alrededor del 50 % de los aminoácidos libres presentes en el hidrolizado de proteínas resulta tener una forma denominada "dextrógira", debido al cambio en la estructura quiral. Las plantas, como todos los seres vivos, no pueden utilizar directamente los aminoácidos libres dextrógiros en su metabolismo y, por lo tanto, no se utilizan realmente por su función bioestimulante, por el contrario, su acumulación en las células vegetales puede ser tóxica.

Además, el proceso de hidrólisis química, debido a las condiciones extremas de temperatura y pH:

- 1. no es selectivo con respecto a los enlaces peptídicos** (no es posible establecer con anterioridad los aminoácidos libres y otras fracciones de proteínas que se formarán);
- 2. causa la destrucción de muchos aminoácidos**, como el triptófano, que se destruye totalmente, la cisteína, la serina y la treonina que se destruyen parcialmente;
- 3. puede inducir la formación de sustancias potencialmente tóxicas**, como la lisinoalanina;





En la hidrólisis enzimática se utilizan enzimas estereoespecíficas que cortan las cadenas de proteínas en condiciones de pH neutro y baja temperatura (< 60 °C). El resultado es un hidrolizado de proteínas altamente estable y reproducible (composición constante en el tiempo), ya que cada enzima seleccionada corta solo un tipo específico de enlace entre los aminoácidos y al trabajar en condiciones más neutras, no hay problemas de destrucción de los aminoácidos. Por último, al menos el 95 % de los aminoácidos libres formados por hidrólisis enzimática permanecen en la forma **levógi-ira**, es decir, la presente en la naturaleza, con un porcentaje de "racemización" (transformación de levógiros a dextrógiros) casi nulo.

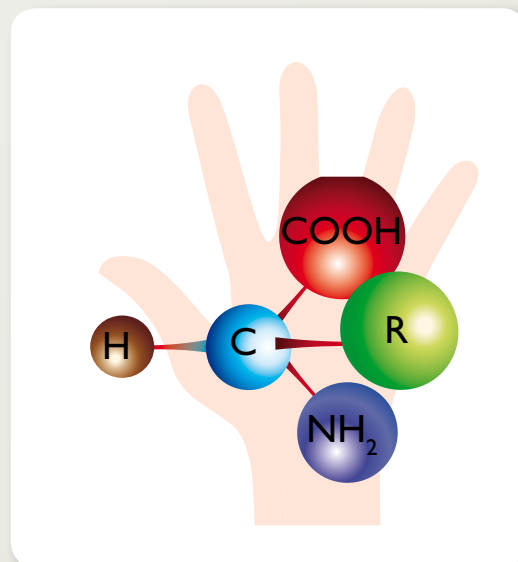
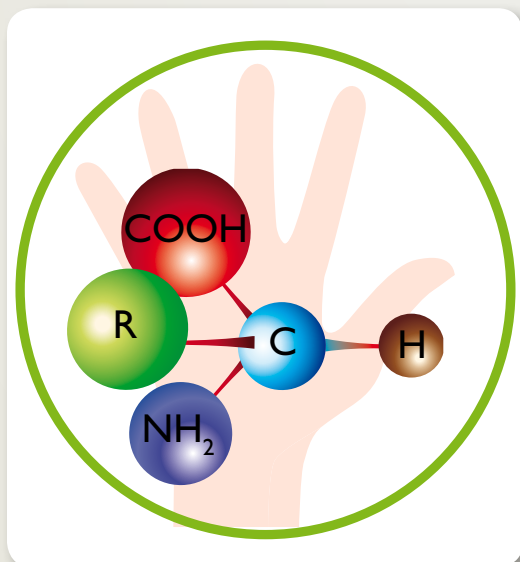


La hidrólisis mixta implica el uso conjunto de técnicas de hidrólisis química y enzimática.



*¿Cuáles son los
parámetros que
establecen la calidad
de un hidrolizado de
proteínas?*

- **El contenido total de aminoácidos y el perfil aminoacídico**, es decir, el tipo de aminoácidos más presente. La presencia de todos los aminoácidos es importante para las plantas y en particular: la glicina, la prolina, la hidroxiprolina, el ácido glutámico, el ácido aspártico, la serina, la arginina y la alanina son las más relevantes para todas las funciones primarias de las plantas.
- **El contenido de nitrógeno y carbono orgánicos** del hidrolizado de proteínas, que resultará más alto cuanto mayor sea la presencia de aminoácidos.
- **La presencia de fracciones muy pequeñas de proteínas, es decir, aminoácidos libres y oligopéptidos que tiene un efecto inmediato y bioestimulante para las plantas**, ya que se absorben rápidamente a nivel foliar y radical, gracias a su bajo peso molecular. Se utilizan inmediatamente en los procesos de síntesis de proteínas acelerando la respuesta metabólica de las plantas.
 - Los oligopéptidos pueden reconocerse por su peso molecular, menos de 5.000 Da, pero un peso molecular inferior a 600 Da, (Dalton) indica la presencia tanto de aminoácidos libres como de oligopéptidos formados por un máximo de 4-5 aminoácidos con una fuerte acción bioestimulante.
- **La presencia de un alto porcentaje de aminoácidos libres en forma de "levógira"**.
 - Los aminoácidos libres se distinguen cualitativamente según su forma "levógira" y "dextrógira", evaluados por un análisis específico de laboratorio mediante luz polarizada que muestra la orientación de los grupos COOH y NH₂. La planta utiliza principalmente aminoácidos libres en **forma levógira**, ya que son la forma más presente en la naturaleza y adecuada para todos los procesos fisiológicos.



Según el proceso de hidrólisis utilizado, como ya se ha mencionado, puede haber un cierto grado de "racemización", es decir, el cambio de la estructura de "levógira" a "dextrógira". Cuanto mayor es el grado de racemización, más aminoácidos libres dextrógiros se forman, menor es la calidad del hidrolizado de proteínas porque la planta utiliza principalmente aminoácidos libres en forma levógira, ya que son los más presentes en la naturaleza y adecuados para todos los procesos fisiológicos. Por otra parte, los aminoácidos libres dextrógiros a menudo no son reconocidos inmediatamente por las plantas y, por lo tanto, no los utilizan para su función bioestimulante. La hidrólisis enzimática garantiza al menos el 95 % de los aminoácidos en forma levógira presentes en el hidrolizado, en contraste con la hidrólisis química, donde este porcentaje puede ser de un máximo del 50 %.

| | HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA | HIDROLISIS QUÍMICA |
|---|-----------------------|--------------------|
| Grado de racemización de los aminoácidos libres | Bajo | Alto |
| Aminoácidos libres en forma levógira | > 95% | < 50% |

- El carácter de "**polímero natural**" de un hidrolizado de proteínas se mide por la proporción entre los contenidos de las diferentes fracciones de proteínas y por el origen de la materia prima de la que se obtiene.
- Por "*polímeros naturales*" se entiende los polímeros resultantes de un proceso de polimerización que ha tenido lugar en la naturaleza, independientemente del proceso de extracción por el que se hayan extraído (ECHA, Orientación sobre monómeros y polímeros, Versión 2.0).
- En consecuencia, solo los polímeros derivados de materias primas de origen natural son naturales, independientemente del proceso tecnológico por el que se extraigan. Los polímeros naturales se caracterizan por **no tener más de la mitad del total de aminoácidos en forma libre** y, además, siempre es necesaria una cierta variabilidad de composición entre las diferentes fracciones poliméricas, ya que un producto natural no puede contener más del 50 % del mismo aminoácido libre u oligopéptido.
- Si un polímero cumple los estrictos requisitos del artículo 3(5) del Reglamento REACH CE 1907/2006, puede quedar exento de él. **En cambio, los productos a los que se añaden aminoácidos sintéticos no cumplen estos parámetros y, por lo tanto, deben estar sujetos al registro REACH.**

En resumen, los principales parámetros que caracterizan la calidad de un hidrolizado de proteínas son:

- ▶ Alto número de aminoácidos totales y su tipo;
- ▶ Alto contenido en nitrógeno orgánico y carbono orgánico;
- ▶ Alto contenido de aminoácidos libres en forma levógira + oligopéptidos, que también ejercen un efecto bioestimulante en las plantas;
- ▶ Características químico-físicas de baja salinidad y pH subácido, que también permiten la miscibilidad de estos productos con otras formulaciones comerciales;
- ▶ Exención del Reglamento REACH CE 1907/2006, que determina el carácter de "polímero natural" del hidrolizado de proteínas.

Por consiguiente, para evaluar la calidad de un hidrolizado de proteínas sería útil disponer de certificados de análisis relativos a:

- ▶ Aminograma;
- ▶ Contenido de aminoácidos totales y libres;
- ▶ Contenido de nitrógeno orgánico y carbono orgánico;
- ▶ Salinidad, pH y densidad;
- ▶ Distribución del peso molecular de fracciones proteicas;
- ▶ Grado de racemización;
- ▶ Declaración de exención REACH.



GELAMIN[®]



gelatina fluida para uso agrícola



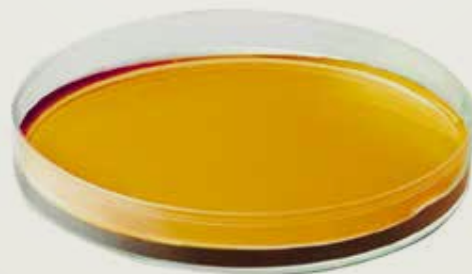
FULLY
CONTROLLED
ENZYMATIC
HYDROLYSIS



GELAMIN®

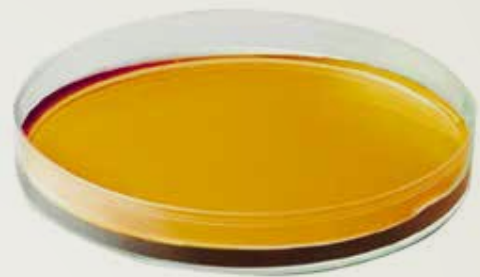
gelatina fluida para uso agrícola

GELAMIN® es la matriz proteica de **ILSA** (gelatina hidrolizada fluida para uso agrícola) obtenida mediante un proceso de hidrólisis enzimática (FCEH®: Fully controlled enzymatic hydrolysis) del colágeno. La materia prima utilizada, específicamente, es el wet blue, una etapa intermedia del proceso de procesamiento de la piel que, según el Reg. CE 142/2011, **está absolutamente libre de riesgos para la salud** y contiene un porcentaje muy alto de colágeno.

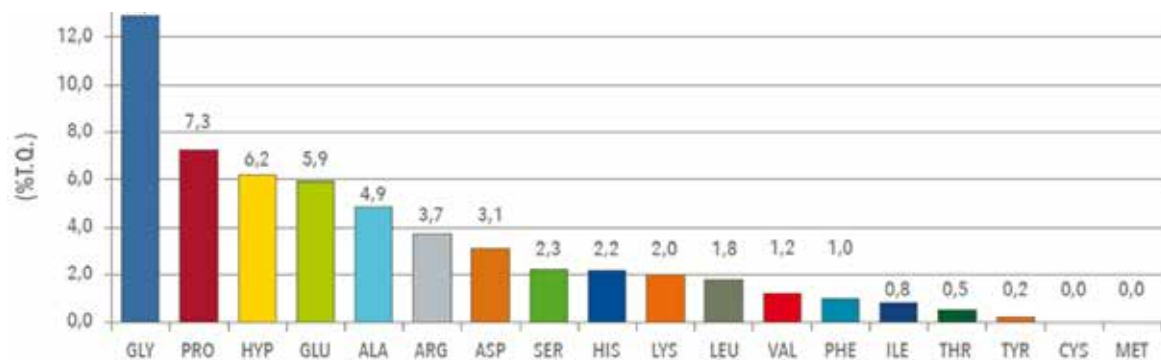


La combinación de la materia prima y el proceso productivo hace de **GELAMIN®** el hidrolizado de proteínas con las mejores características de calidad del mercado:

- Nitrógeno orgánico = 9 % (p/p)
- Carbono orgánico = 24,5 % (p/p)
- Aminoácidos totales > 50 % (p/p)
- Aminoácidos libres levógiros + oligopéptidos > 22 % (p/p)
- pH = 5-6
- Conductividad eléctrica (1:100) = 0,7-0,95 dS/m
- Densidad = 1,22 kg/dm³
- Permitido en la agricultura orgánica



COMPOSICIÓN DE AMINOÁCIDOS DE GELAMIN®



GLY=GLICINA
 PRO=PROLINA
 HYP=HIDROXIPROLINA
 GLU= ÁCIDO GLUTÁMICO
 ALA=ALANINA
 ARG=ARGININA

ASP=ÁCIDO ASPÁRTICO
 SER=SERINA
 HIS=HISTIDINA
 LYS=LISINA
 LEU=LEUCINA
 VAL=VALINA

PHE=FENILALANINA
 ILE=ISOLEUCINA
 THR=TREONINA
 TIR = TIROSINA
 CYS=CISTEÍNA
 MET=METIONINA

El análisis de los aminoácidos que contiene revela la elevada presencia de glicina, prolina e hidroxiprolina, típicas de la matriz de proteína animal de la que está constituida la materia prima, es decir, el colágeno. Es posible observar la variabilidad de los aminoácidos presentes, que ponen de relieve el carácter natural del hidrolizado de proteínas.

El análisis de los pesos moleculares también muestra que las fracciones proteínicas de la **GELAMIN®** son muy pequeñas y que alrededor **del 22 % del producto, sobre el peso seco, es decir, después de la eliminación del agua, está compuesto de aminoácidos y oligopéptidos libres con un peso molecular inferior a 600 Da, por lo tanto, con un claro efecto bioestimulante** (Fig.1). La parte restante de las fracciones proteínicas tiene un peso molecular inferior a 2620 Da, lo que sin embargo indica una rápida absorción por parte de las plantas y una acción complejante y de soporte hacia otros nutrientes y productos mezclados.

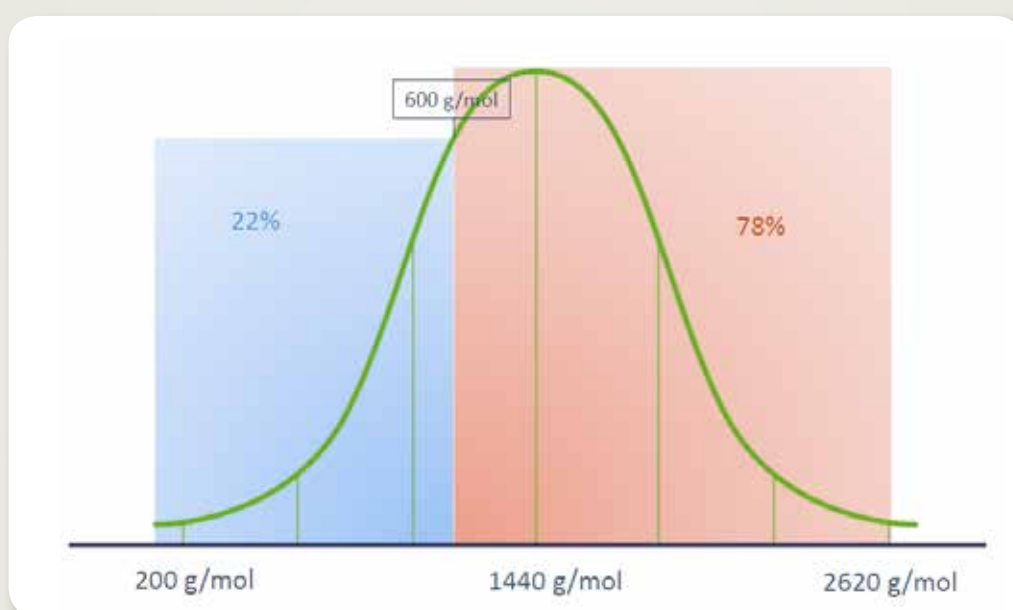


Fig.1 - Distribución de los pesos moleculares de **GELAMIN®**

Por último, las técnicas analíticas modernas han definido que la cantidad de moléculas poliméricas de los productos **ILSA** y la distribución de sus pesos moleculares respetan las estrictas limitaciones del Art. 3 (5) del REACH, por lo tanto, los productos **ILSA** pueden definirse como polímeros, y la exención del registro REACH certifica que el producto es **seguramente un "polímero natural"** y esto garantiza que, en la matriz **GELAMIN®**, hay una composición equilibrada de componentes con diferentes pesos moleculares, que van desde los aminoácidos libres hasta los oligopéptidos, capaces de actuar muy eficazmente sobre la planta. Esto se debe a que **ILSA** utiliza únicamente materias primas naturales y procesos tecnológicos de hidrólisis para la producción de sus productos, que actúan únicamente acortando la cadena polimérica sin modificar su secuencia en monómeros y permiten transformar un producto que difícilmente puede ser utilizado por las plantas en un producto altamente biodisponible.



Otros hidrolizados de proteínas

Los hidrolizados de proteínas de la hidrólisis química

También son productos "naturales", ya que se obtienen a partir de materias primas naturales, pero el proceso de producción más "agresivo", como se explica en el capítulo sobre la hidrólisis química, tiene algunas desventajas:

- ▶ Degradación de algunos aminoácidos, ya poco presentes en la materia prima, que pueden estar ausentes en el hidrolizado porque se degradan durante el proceso de hidrólisis (por ejemplo, el triptófano, la cisteína). Esto también causa una reducción del contenido total de aminoácidos;
- ▶ Reducción del contenido de nitrógeno orgánico y presencia de nitrógeno amoniacal producido durante el proceso relacionado con la degradación de los aminoácidos;
- ▶ Alto contenido de aminoácidos libres en forma dextrógira: al menos la mitad de los aminoácidos libres obtenidos por hidrólisis química se encuentran en forma dextrógira, por lo que no tienen una acción bioestimulante sobre las plantas, que no pueden utilizarlos en su metabolismo;
- ▶ Características químico-físicas de alta salinidad y pH excesivamente ácido o básico, que causan contraindicaciones de miscibilidad con otras formulaciones;
- ▶ Aminograma desequilibrado en unos pocos aminoácidos, especialmente si la materia prima utilizada no es el colágeno.

Hidrolizados de proteínas sintéticos

Además de los hidrolizados de proteínas obtenidos a partir de la hidrólisis de proteínas vegetales y/o animales, existen en el mercado productos obtenidos mediante la mezcla de aminoácidos de origen sintético. Aunque puedan ser etiquetados como "hidrolizados de proteínas", estos productos no son verdaderos hidrolizados, ya que no se ha llevado a cabo ningún proceso de hidrólisis para producirlos. Los aminoácidos se sintetizan directamente en el laboratorio mediante reacciones orgánicas específicas o procesos de ingeniería genética. Posteriormente, se disuelven en agua, incluso junto con residuos de azúcar, y luego se venden a muy bajo costo, así como son o liofilizados.

- ▶ Los hidrolizados de proteínas de origen sintética tienen aparentemente características similares a los hidrolizados de proteínas naturales, **pero su uso en la agricultura orgánica, si se descubriera, causaría la pérdida de la certificación de los cultivos y de las granjas productoras en las que se utilizan.**



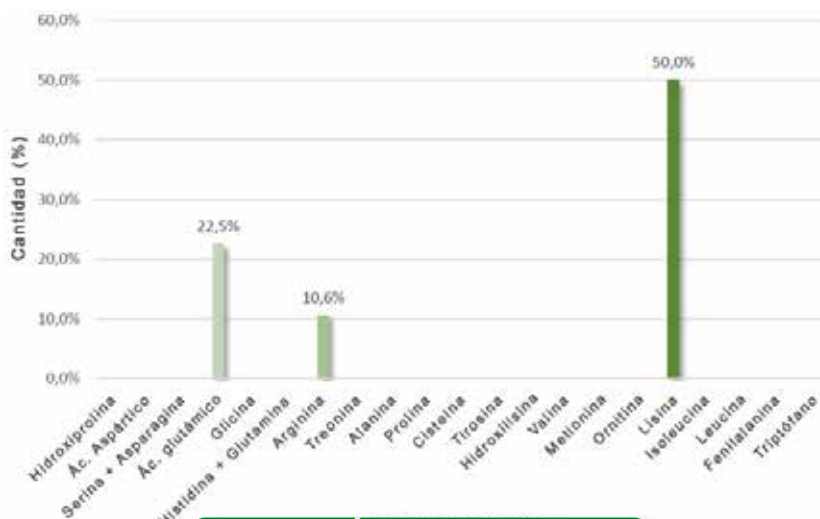
*¿Puede uno defenderse
de tales estafas?*

Realizando el análisis del contenido total de aminoácidos y de aminoácidos libres, lo que permite comprobar si estos productos:

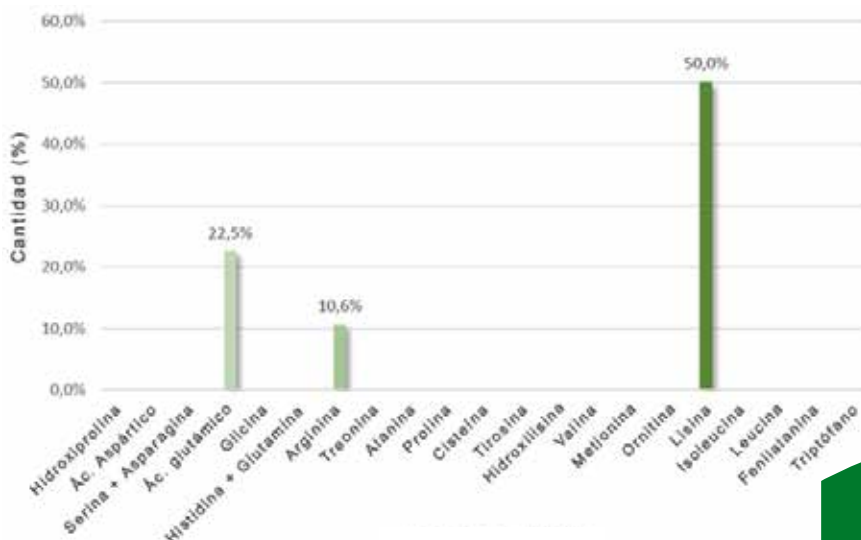
- ▶ contienen mezclas de unos pocos aminoácidos: a lo sumo solo 3 o 4 tipos de aminoácidos, lo que no es posible en la naturaleza;
- ▶ contienen aminoácidos presentes solo en forma libre, es decir, el porcentaje de aminoácidos totales coincide con el de los aminoácidos libres, lo que es imposible con cualquier proceso de hidrólisis;
- ▶ contienen un solo aminoácido en exceso del 50 % del total de aminoácidos presentes en el producto, lo que confirma que la formulación no es un "polímero natural" (según el REACH).
- ▶ En general, el aminoácido sintético más añadido es la lisina, ya que se caracteriza por su alta solubilidad;
- ▶ contienen muchos aminoácidos libres pero, en proporción, poco nitrógeno orgánico (de origen natural).

Ejemplo del perfil de aminoácidos totales y libres de un hidrolizado de proteínas sintético:

AMINOÁCIDOS LIBRES



AMINOÁCIDOS TOTALES



En el ejemplo que se muestra, se puede ver que el número y el tipo de aminoácidos totales coinciden con los libres y que un solo aminoácido (lisina) está presente en un 50 %. Además, solo hay tres aminoácidos presentes, lo que es imposible en una proteína natural.



*¿Existen otras
verificaciones analíticas
simples que nos
permitan "detectar la
supuesta estafa"?*

Pueden ocurrir:

- ▶ el alto contenido de cloruros, debido a que algunos aminoácidos se producen en forma de sal de cloruro (por ejemplo, la lisina y la cisteína). En algunos casos, el porcentaje de cloruros puede ser superior al 10 %, lo que da lugar a una alta conductividad eléctrica de la formulación, que puede tener efectos fitotóxicos en la planta y limita su miscibilidad con otros productos;
- ▶ la alta presencia de aminoácidos en forma dextrógira;
- ▶ posibles contraindicaciones de la mezcla con otros productos.

¡Cuidado con la etiqueta!

Algunos productores de hidrolizados de proteínas en el mercado utilizan otros "trucos" para declarar valores más altos de aminoácidos totales y libres o para enmascarar el tipo de proceso de producción utilizado.

Entre ellos, los más utilizados son:

- ▶ Expresar los valores en peso/volumen, de modo que el valor es mayor que el expresado en peso/peso;
- ▶ Expresar los valores en seco (no tal cual, lo que debería hacerse para los productos líquidos), por lo que al eliminar el agua, el valor es significativamente mayor;
- ▶ Comercializar productos con valores de densidad muy altos, por lo que diluyen menos el producto, con el consiguiente riesgo de reducir la estabilidad y la vida útil;
- ▶ Declarar la hidrólisis enzimática como proceso, pero el costo del producto es muy bajo (la hidrólisis enzimática implica la compra de enzimas específicas, tiene lugar a bajas temperaturas y, por lo tanto, tiene un proceso con una duración mucho mayor y un rendimiento menor, caracterizado por costos de producción más elevados);
- ▶ Declarar valores muy elevados de aminoácidos libres, que no pueden justificarse ni en relación con la materia prima declarada ni con el proceso de producción ante un precio excesivamente bajo del producto.

¡Finalmente, lo que permite distinguir un hidrolizado de proteína de calidad de otro es la facilidad de uso y el resultado agronómico en términos de calidad y cantidad de la producción obtenida en el campo!



Métodos de análisis

GRADO DE HIDRÓLISIS

Indica la cantidad de cortes de las cadenas de polipéptidos. Está establecido con el método previsto por la ley, es decir en base a la relación entre nitrógeno amínico (N-NH₂) y nitrógeno orgánico total (N org). Se dosifica el nitrógeno amínico (N-NH₂) mediante espectrofotometría haciendo reaccionar una alícuota del hidrolizado proteico, habiendo diluido en agua con una solución de o-ftaldialdehído (OPA) en presencia de N-acetil-cisteína (NAC) y sodio dodecasilsulfato (García Álvarez-Coque et al., 1989; Nielsen et al., 2001).

El nitrógeno orgánico total (N org) se calcula por diferencia, restando al nitrógeno total la fracción mineral (N nítrico y N amoniacal).

TAMAÑO MOLECULAR MEDIO (MW)

El tamaño molecular medio está establecido por cromatografía líquida de exclusión por tamaño (HP-SEC). Los cromatogramas se registran a la longitud de onda de 214 nm. Todas las muestras se diluyen a la misma concentración de carbono orgánico total (1 g/L TOC) en la fase móvil y se filtran a 0,2 µm antes de inyectarse en la columna (20 µL).

Para la curva de calibración estándar, se usan polipéptidos con peso molecular comprendido entre 1,35 (vitamina B12) y 670 (tioglobulina) kDa.

AMINOÁCIDOS LIBRES

Los aminoácidos libres (AAL) se extraen poniendo en contacto los hidrolizados proteicos con HCl 0,1 M durante 1 hora y determinados con el extracto filtrado a 0,45 µm per cromatografía en fase líquida de altas prestaciones (HPLC) después derivatización con 9-fluorenilmetoxicarbonil cloruro (FMOC-CL), según Cunico et al. (1986).

GRADO DE RACEMIZACIÓN

El grado de racemización (RD) se calcula sobre las formas quirales de la alanina libre (D-ala y L-Ala) según el método propuesto por Cavani et al. (2003). Los hidrolizados proteicos se diluyen en agua desionizada y en el filtrado de 0,45 µm se determinan las siguientes formas quirales de la alanina libre por electroforesis capilar ad altas prestaciones (HPCE) utilizando β-ciclodestrina como selector quiral y cloruro de dansil como agente derivatizante.

ILSA S.p.A.

*Via Quinta Strada, 28
36071 - Arzignano (VI) Italia
Sede legale: Via Roveggia, 31 - 37136 - Verona*

*Tel. +39 0444 452020
Fax +39 0444 456864*

*www.ilsagroup.com
ilsagroup@ilsagroup.com*

