

# MODIFICACION ENZIMATICA DE LAS PROTEINAS DE TORTAS COMERCIALES DE AJONJOLI (*Sesamum indicum*, L.)

C. Pérez G.<sup>1</sup> y R. Saad L.<sup>2</sup>

Departamento de Tecnología de Procesos Biológicos y Bioquímicos,  
Universidad Simón Bolívar, Caracas, Venezuela

## RESUMEN

El ajonjolí (*Sesamum indicum*, L.) es una de las oleaginosas de mayor cultivo en Venezuela. No obstante, la baja solubilidad de las harinas a partir de tortas comerciales no permite su utilización en la elaboración de alimentos líquidos.

Por este motivo, se estudió la alternativa de solubilizar estas proteínas por un método enzimático, utilizando proteasas comerciales. La hidrólisis se realizó con dos tipos de proteasas bacterianas: neutrasa 0.5L y alcalasa 0.6L.

Esencialmente, el proceso consistió en moler y tamizar la torta (malla 60), concentrar las proteínas por solubilización a un pH de 9.5, y precipitar a un pH de 4.5, hidrolizar las proteínas por un método enzimático y secar el hidrolizado obtenido, por liofilización y por atomización.

Las condiciones óptimas de hidrólisis con neutrasa 0.5L a un pH de 7 fueron: 60/o de concentración de sustrato, 30/o relación enzima: sustrato, temperatura de 50° ± 1°C, y un grado de hidrólisis de 80/o. Con alcalasa 0.6L, a un pH de 8, las condiciones óptimas resultaron ser: 80/o concentración de sustrato; 2.30/o relación enzima: sustrato, temperatura 58° ± 1°C, y un grado de hidrólisis de 100/o.

La afinidad de la enzima por el sustrato fue mejor a temperaturas cercanas a las óptimas para la obtención de los hidrolizados.

Los hidrolizados deshidratados acusaron valores de proteína de 66.30/o a 66.90/o, y una solubilidad del nitrógeno en agua de 850/o, aproximadamente.

El rendimiento de la hidrólisis enzimática con respecto a la masa de concentrado seco fue de 420/o para el hidrolizado atomizado, y de 560/o con respecto al liofilizado.

---

Manuscrito modificado recibido: 21-6-84.

- 1 Profesor Agregado del Departamento de Tecnología de Procesos Biológicos y Bioquímicos, Universidad Simón Bolívar, Apartado Postal 80659, Caracas 1080-A, Venezuela.
- 2 *Magister Scientifcae* en Ciencia de los Alimentos. Estudiante graduado de la Maestría en Ciencia de los Alimentos, del Departamento en referencia.

En conclusión, el proceso de hidrólisis enzimática de las proteínas de ajonjolí mejora la solubilidad del nitrógeno en agua de las mismas.

### INTRODUCCION

En Venezuela, el ajonjolí (*Sesamum indicum*, L.) es la oleaginosa de mayor importancia en la industria aceitera, y en la actualidad las tortas residuales del proceso de extracción del aceite, se utilizan para propósitos de alimentación animal. Las tortas de ajonjolí contienen más de 40% de proteínas, con un alto contenido de aminoácidos azufrados, principalmente metionina (1, 2), con una deficiencia moderada de lisina (3, 4). Estas propiedades promueven su utilización en la alimentación humana, aun cuando su baja solubilidad (3) restringe su uso en la elaboración de productos líquidos, debido a que produce sedimentación (5).

Diversos autores han observado que la hidrólisis enzimática origina cambios en las propiedades funcionales de las proteínas, permitiendo su incorporación en alimentos líquidos, sin que por ello se altere mayormente su valor nutricional. El origen de estas proteínas ha sido muy variado; por ejemplo, ajonjolí (6, 7), concentrado de pescado (8, 9), harina de algodón (10, 11), y aislado de soya (12-14).

El principal problema asociado con la hidrólisis de proteínas es la formación de péptidos amargos, lo que parece estar asociado a un alto grado de hidrólisis.

El método del pH estático permite controlar la extensión de la hidrólisis hasta un grado deseado (12, 15).

El objetivo de este trabajo fue estudiar la hidrólisis enzimática, con el fin de establecer los valores óptimos de temperatura, concentración de sustrato, relación de enzima-sustrato, y grado de hidrólisis requeridos para obtener un producto soluble y de sabor aceptable.

### MATERIALES Y METODOS

Las muestras de tortas comerciales adquiridas eran de una variedad cultivada en Acarigua, Venezuela, que se obtienen de la extracción de aceite por un proceso de prensado y extracción por solvente a altas temperaturas. Luego se molieron estas tortas hasta una granulometría de 0.5 mm en un molino Thomas Wiley, Modelo 4, y fueron tamizadas por malla 60 en un tamizador Tyler, Modelo RX 24. Las proteínas fueron concentradas siguiendo el procedimiento que ilustra la Figura 1, secándose en un liofilizador Labconco, Modelo 12, a una presión de 4 torr. y  $-60^{\circ}\text{C}$  de temperatura del condensador. El proceso enzimático se llevó a cabo mediante la hidrólisis del concentrado con proteasas comerciales neutrasa 0.5L, y alcalasa 0.6L a un pH de 7 y 8, respectivamente, por ser éstos los pH recomendados por la casa fabricante para estas enzimas (16, 17). La determinación de la cantidad de sustrato y de enzima, la temperatura y el grado de hidrólisis se hizo valiéndose del método del pH estático (12), que consiste en la hidrólisis de un sustrato determinado mediante la acción de proteasas, manteniendo constante el pH por la adición de base (NaOH 4M), la cual actúa como controladora del proceso. La cantidad de base

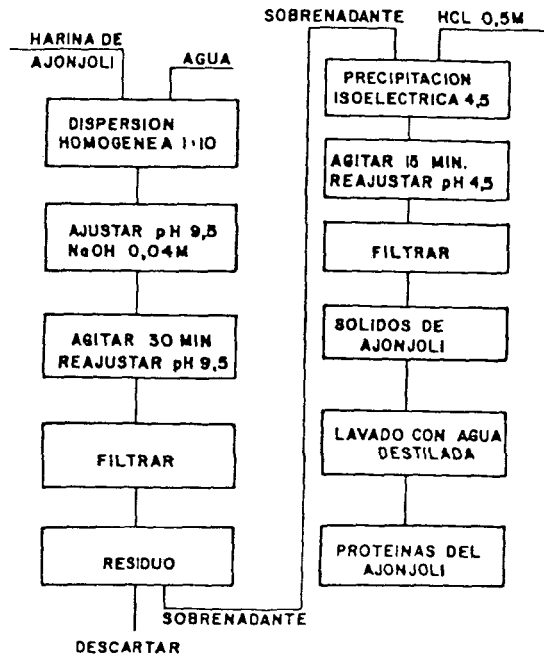


FIGURA 1

Esquema del proceso de obtención del concentrado proteínico de ajonjolí

necesaria para mantener el pH constante es proporcional al grado de hidrólisis (G. H.), el cual se define como el porcentaje de uniones peptídicas rotas y se obtiene mediante la siguiente ecuación:

$$G. H. = \frac{h}{ht} \times 100 \quad (1)$$

Siendo:

$h$  = número de enlaces peptídicos rotos en mEq/g).

$ht$  = número total de enlaces peptídicos que contiene la molécula de proteínas, 8 mEq/g (18),

donde:

$$h = \frac{B \times Nb}{Mp} \quad a \quad a^{-1} \quad (2)$$

y

$B$  = base consumida durante el proceso, en ml.

Nb = normalidad de la base usada.

Mp = masa de proteínas (N x 6.25), porcentaje g proteína/100 g muestra.

$\alpha$  = grado de disociación que depende del pH y temperatura usada durante el proceso (18).

Para la selección del sustrato y temperatura óptima, se mantuvo constante el pH, la cantidad de enzima a usar, y el tiempo de hidrólisis; para la enzima neutrasa se varió la concentración del sustrato entre 2<sup>o</sup>/o y 8<sup>o</sup>/o, añadiéndose un 10<sup>o</sup>/o en exceso sobre la cantidad calculada y las temperaturas de 40<sup>o</sup> a 55<sup>o</sup>C. Para la enzima alcalasa, las concentraciones fueron entre 2<sup>o</sup>/o y 10<sup>o</sup>/o, a una temperatura de 40<sup>o</sup> a 70<sup>o</sup>C.

Una vez obtenidas la concentración de sustrato y las temperaturas óptimas, las cantidades de enzimas usadas fueron las siguientes:

Neutrasa		Alcalasa	
Concentración de enzima con respecto al sustrato o/o	Relación enzima-sustrato o/o	Concentración de enzima con respecto al sustrato o/o	Relación enzima-sustrato o/o
0.08	1.3	0.07	0.9
0.09	1.5	0.09	1.1
0.11	1.8	0.11	1.4
0.15	2.5	0.15	1.9
0.19	3.0	0.18	2.3

Dichas concentraciones fueron llevadas a un volumen de 50 ml con agua destilada.

La selección de la cantidad de sustrato y de enzima, así como la temperatura, se calculó por el consumo de NaOH en miliequivalentes (mEq). Para determinar el grado de hidrólisis se usó como criterio el sabor amargo que presentan los hidrolizados, el que se acentúa en intensidad con el grado de hidrólisis (12). Se tomaron muestras con grados de hidrólisis de 6<sup>o</sup>/o y 8<sup>o</sup>/o para la enzima neutrasa, y de 8<sup>o</sup>/o, 10<sup>o</sup>/o y 12<sup>o</sup>/o para la enzima alcalasa, con el fin de determinar el punto de mínimo rechazo. Se inactivaron las enzimas hasta un pH de 4.2, y se mantuvo el hidrolizado en un baño a temperatura controlada durante 30 minutos a 50<sup>o</sup>C (15). Se evaluó el sabor en una prueba de opinión a nivel de laboratorio, de muestras a las cuales se les adicionó 2.5 g de azúcar por cada 20 ml de hidrolizado líquido. La determinación de la actividad residual de las proteasas se llevó a cabo mediante el método modificado de Kimmel y Smith (19), inactivándose los hidrolizados a un pH de 7 a 4.2 con ácido cítrico, para definir el pH de inactivación de las proteasas.

La afinidad del sustrato por la enzima (Km) se llevó a cabo a través de un estudio cinético utilizando la ecuación de Lineweaver-Burk (20, 21), a fin de obtener un gráfico del inverso de la velocidad inicial de la reacción (1/V<sub>o</sub>) en contraposición al inverso de la concentración del sustrato (1/S), y hallar así, por intersección con el eje de las abscisas, el valor inverso de la afinidad de la enzima con el sustrato (- 1/Km).

Una vez obtenidos los parámetros óptimos para la hidrólisis del concentrado proteínico de ajonjolí (temperatura, cantidad de enzima y sustrato, grado de hidrólisis y pH de inactivación de la enzima) se produjeron los hidrolizados siguiendo el esquema de la Figura 2, colocando el sustrato en un balón de tres bocas con una capacidad de 1 lt. En este balón se colocó el electrodo de un potenciómetro digital Corning, Modelo 125, el aspa de un agitador marca G. K. Heller (boca central), y en la tercera boca se introdujo un termómetro y la punta de una bureta con NaOH 4M con el fin de controlar y mantener constante el pH óptimo.

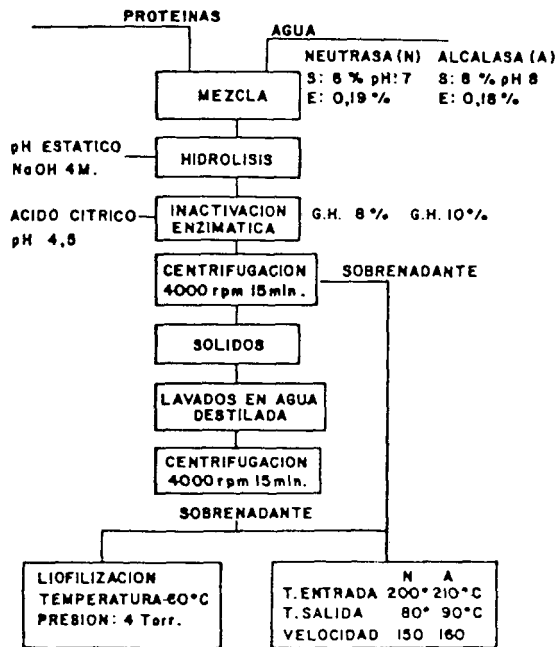


FIGURA 2

Esquema del proceso de obtención de los hidrolizados enzimáticos

Los hidrolizados obtenidos fueron secados en un liofilizador marca Labconco, Modelo 12 y en un atomizador marca Anhydro, Modelo 3.52. 5001.

Los hidrolizados fueron identificados con tres letras: la primera, que corresponde al hidrolizado mismo (H), la segunda se refiere a la enzima usada (N, neutrasa y A, alcalasa), y la tercera, al tipo de secado (L, liofilización y A, atomización). Los análisis proximales de harina, concentrado e hidrolizados de ajonjolí se determinaron por los métodos descritos por la AOAC (22) para humedad, proteínas, fibra, grasa y cenizas.

La solubilidad del nitrógeno en agua se determinó en la harina y en los concentrados e hidrolizados de ajonjolí, utilizando la técnica descrita por Franzen (23), preparándose suspensiones de las muestras en tubos de

ensayo al 10/o, en agua destilada. Se mezclaron durante un minuto en un vortex a una velocidad de cinco, y luego se centrifugaron durante 10 minutos a 2,000xG. Se determinó la cantidad de nitrógeno soluble en el sobrenadante por el método del Microkjeldahl (22).

## RESULTADOS Y DISCUSION

### *Composición Química de Harina, Concentrado e Hidrolizados de Ajonjolí*

Los valores promedio de la composición química de harina, concentrado e hidrolizados de ajonjolí, se presentan en la Tabla 1. Se observa un aumento en el contenido de proteínas del concentrado (72.80/o), y una disminución promedio de 80/o en los hidrolizados. Esta disminución del contenido de proteínas en el hidrolizado (66.70/o) se debió a que la hidrólisis del concentrado fue controlada a niveles por debajo del óptimo para eliminar el sabor amargo del producto solubilizado. Los valores de humedad, fibra y grasa disminuyeron en el proceso de obtención del hidrolizado en 450/o, 930/o y 660/o, respectivamente, cuando se les compara con los valores de la harina. Las cenizas disminuyeron en el concentrado, pero aumentaron a un nivel idéntico al de la harina (13.20/o) en el proceso de hidrólisis; esto lo explica la formación de sales a causa de la adición de hidróxido de sodio y ácido cítrico utilizados para la obtención del hidrolizado. Los carbohidratos variaron de acuerdo a lo previsto, siendo mayor su contenido en los hidrolizados, con un promedio de 16.20/o, que en el concentrado, 7.20/o, ya que en el proceso químico de obtención del último se eliminan con el residuo.

El contenido de proteínas de la harina (47.30/o) coincide con el rango señalado para ajonjolí por diversos autores (2, 4, 24, 25). El concentrado obtenido acusó un contenido de proteínas menor que el obtenido por otros investigadores en variedades venezolanas (4, 26), siendo el contenido promedio de proteínas de los hidrolizados de 66.70/o.

TABLA 1

### COMPOSICION QUIMICA DE HARINA, CONCENTRADO E HIDROLIZADO DE AJONJOLI

	g/100 g muestra					
	Harina	Concentrado	HNL	HAL	HNA	HAA
Proteína (N x 6.25)	47.3	72.8	66.7	66.9	66.3	66.8
Humedad	6.0	5.2	3.5	3.2	3.1	3.3
Fibra	6.3	5.2	0.4	0.3	0.5	0.5
Grasa	0.6	0.4	0.2	0.2	0.2	0.2
Cenizas	13.2	9.2	13.2	13.1	13.0	13.7
Carbohidratos (por dif.)	26.6	7.2	16.0	16.2	16.9	15.6

### Rendimiento del Proceso

El rendimiento en peso en el proceso seguido para la obtención del concentrado fue de 250/o tomando como base 100 g de harina de ajonjolí con un rendimiento proteínico de 38.50/o. El rendimiento en el proceso de hidrólisis y secado por liofilización fue de 140/o y 560/o; y en el de secado por atomización, de 10.50/o y 420/o tomando como base 100 g de harina y 100 g de concentrado secos, respectivamente.

### Optimización del Proceso Enzimático

En las Figuras 3, 4, 5 y 6 se aprecian gráficamente los resultados obtenidos en la hidrólisis de las proteínas del concentrado de ajonjolí, donde se mantuvieron constantes el pH, la concentración de la enzima (1.25 g de enzima/400 ml suspensión), y el tiempo de hidrólisis (1 hora), variándose las concentraciones del sustrato y las temperaturas. Al analizar los miliequivalentes (mEq) de NaOH consumidos por hora durante la hidrólisis con neutrasa (Figura 3) se observa un valor máximo a una concentración de 60/o de sustrato a todas las temperaturas estudiadas; se consiguió una temperatura óptima cercana a 50°C, tal como se hace evidente en la Figura 4. Por debajo del 60/o de sustrato, la enzima no está siendo utilizada

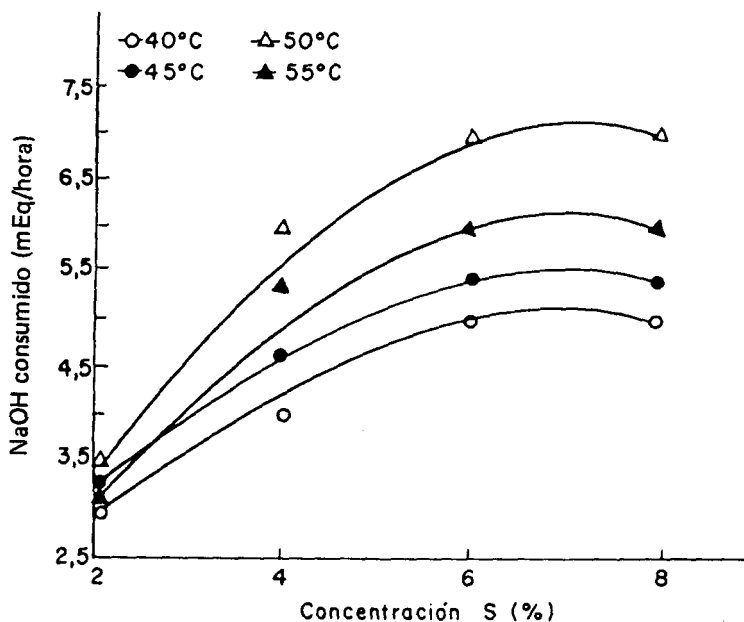


FIGURA 3

Efectos de la concentración del sustrato sobre la hidrólisis del concentrado proteínico de ajonjolí a diferentes temperaturas. Enzima: neutrasa

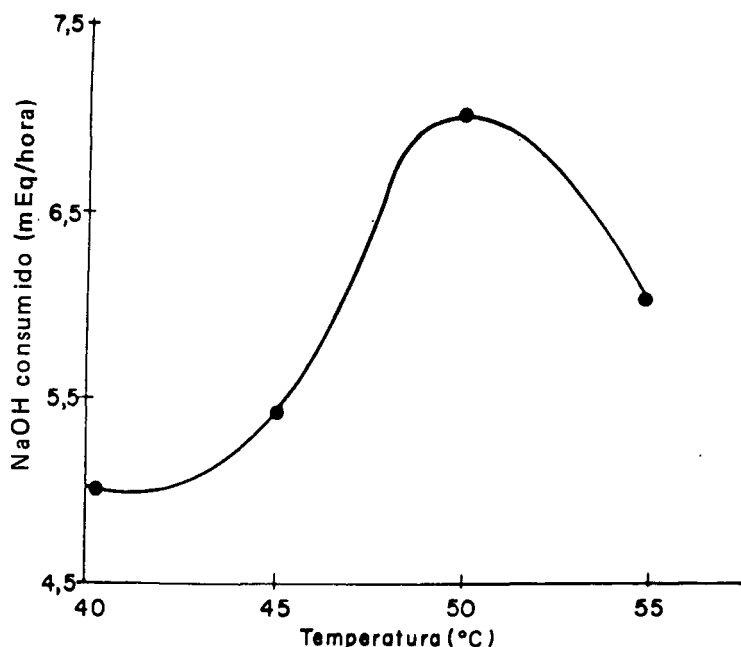


FIGURA 4

Efecto de la temperatura en la hidrólisis enzimática del concentrado proteínico de ajonjolí. Enzima: neutrasa

en su totalidad, mientras que a mayor concentración de sustrato, se obtiene igual cantidad de productos en el mismo tiempo (27). Al usar alcalasa, el óptimo de concentración de sustrato fue de 80/o (Figura 5), coincidiendo con los resultados en la hidrólisis de proteínas de aislado de soya con la misma enzima (12), con un rango de temperatura óptima alrededor de 58°C (Figura 6).

El estudio cinético de la hidrólisis enzimática revela que a medida que se aumenta la temperatura aumenta la afinidad de la enzima por el sustrato; también se incrementa hasta un valor máximo cercano a la temperatura óptima seleccionada, para luego disminuir. Los valores de  $K_m$  para las enzimas neutrasa y alcalasa de detallan en la Tabla 2.

La concentración de las enzimas se escogió como las cantidades máximas de enzimas estudiadas experimentalmente, que fueron 0.190/o para neutrasa y 0.180/o para alcalasa. Esto daría una relación enzima:sustrato

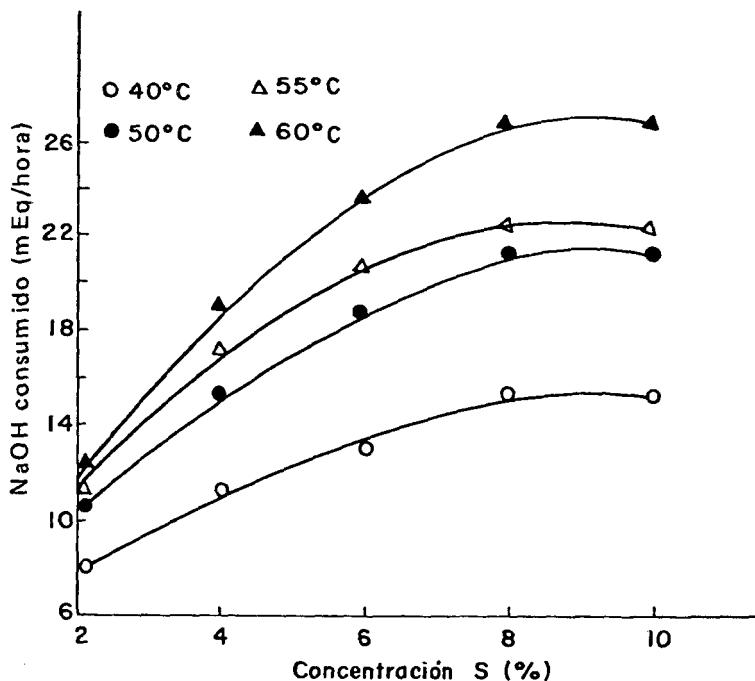


FIGURA 5

Efecto de la concentración del sustrato sobre la hidrólisis del concentrado proteínico de ajonjolí a diferentes temperaturas. Enzima: alcalasa

de 30/o y 2.30/o para neutrasa y alcalasa, respectivamente. Una vez escogidos los pH, la concentración del sustrato y la temperatura óptima, la variación de la relación enzima: sustrato hasta un 50/o no permitió observar variaciones en las propiedades funcionales y nutricionales de los hidrolizados (13).

#### *Determinación del Grado de Hidrólisis (G. H.)*

Diversos autores en sus experiencias con hidrólisis enzimática, han observado que los hidrolizados obtenidos presentan un sabor amargo característico (9, 28-30).

Este hecho se evidenció también en los hidrolizados de ajonjolí, aumentando el sabor amargo a medida que el grado de hidrólisis se incrementaba (12). En vista de este inconveniente, se tomaron muestras con G. H. de 60/o (a 40 minutos de hidrólisis) y de 80/o (a 70 minutos) para la enzima neutrasa, y de 80/o (a 30 minutos), 100/o (a 50 minutos) y 120/o (a 75 minutos), para la enzima alcalasa. Luego se inactivaron las

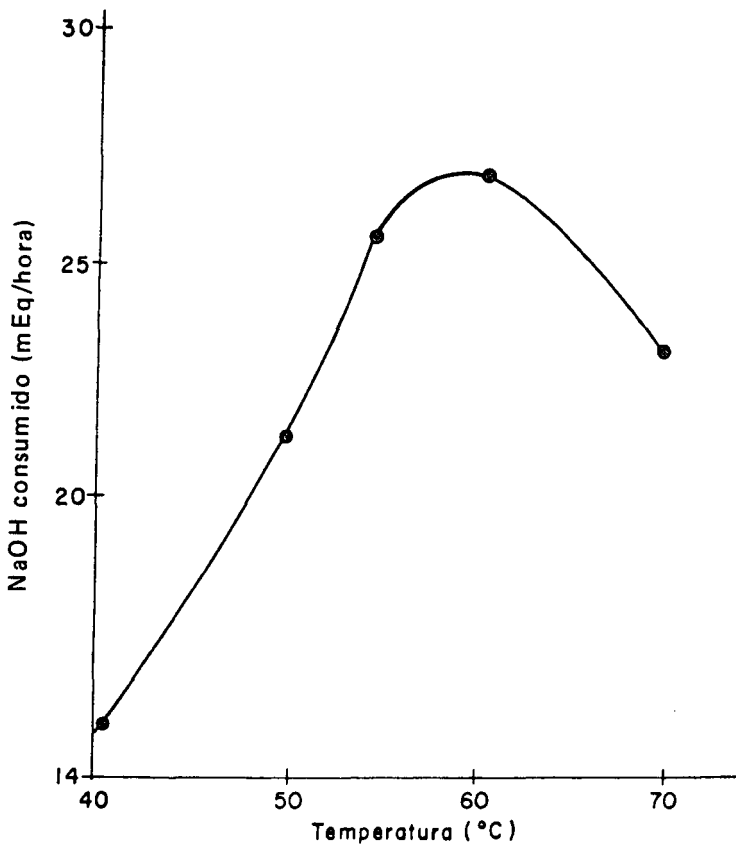


FIGURA 6

Efecto de la temperatura en la hidrólisis enzimática del concentrado proteínico de ajonjolí. Enzima: alcalasa

enzimas con ácido cítrico hasta un pH de 4.2, manteniéndose a 50°C durante 30 minutos (12). Mediante la adición de azúcar, en seguida se sometieron los hidrolizados a una prueba de opinión a nivel de laboratorio, observándose que sólo el hidrolizado con alcalasa a 12% G. H., presentaba sabor amargo. Se escogió 8% G. H. en el caso de los hidrolizados con neutrasa y 10% G. H. para los hidrolizados con alcalasa para producir un material con el mayor contenido de proteínas solubles que, al ser reconstituido bajo las condiciones descritas, no presenten sabor amargo.

#### *Actividad Residual de las Proteasas*

Los hidrolizados llevados a un pH de 4.2 resultaron ser muy ácidos, por lo que se estudió la actividad residual de las proteasas a un pH de 7 a

TABLA 2

**EFFECTO DE LA TEMPERATURA SOBRE LA AFINIDAD DE LA ENZIMA  
POR EL SUSTRATO (Km)**

ToC	Km (mg/ml)	
	Neutrassa	Alcalasa
40	9.37	6.58
45	11.54	—
50	29.82	10.44
55	23.33	18.75
60	—	26.85
70	—	21.54

4.2. Se encontró que al pH de 4.5 se llegaba a la total inactivación para ambas enzimas, y en la prueba organoléptica se observó que el sabor era aceptable.

*Solubilidad del Nitrógeno en Agua*

La Tabla 3 ilustra los valores encontrados en la solubilidad del nitrógeno en agua, y se observa que las proteasas mejoraron la solubilidad de las proteínas nueve veces con respecto a la harina, y 24 veces con respecto al concentrado. Los hidrolizados deshidratados tuvieron una solubilidad de nitrógeno de 85%, aproximadamente. Ello es explicable, ya que al romperse los enlaces peptídicos disminuyen su peso molecular y pueden ser solubilizados, permaneciendo dispersos en la solución donde forman enlaces tipo puente de hidrógeno con el agua, comprobándose así que los tratamientos enzimáticos mejoran la solubilidad del nitrógeno en agua

TABLA 3

**SOLUBILIDAD DEL NITROGENO EN AGUA DE HARINA, CONCENTRADO,  
E HIDROLIZADOS DE AJONJOLI**

Muestra	g/100 g nitrógeno
Harina	9.3 ± 0.2 <sup>a</sup>
Concentrado	3.5 ± 0.1 <sup>c</sup>
Hidrolizado neutrassa liofilizado	86.3 ± 1.0 <sup>b</sup>
Hidrolizado neutrassa atomizado	84.3 ± 0.6 <sup>b</sup>
Hidrolizado alcalasa liofilizado	85.3 ± 0.8 <sup>b</sup>
Hidrolizado alcalasa atomizado	83.5 ± 0.6 <sup>b</sup>

Los promedios que no presentan letras comunes alcanzan entre sí diferencias significativas a un nivel de 95% de confianza.

(30, 31). Además, una vez que se han hidrolizado las proteínas, las altas temperaturas usadas en el secado por atomización no parecen influenciar de manera apreciable la solubilidad de los hidrolizados obtenidos. Ello se aprecia al observar que los valores obtenidos fueron muy cercanos entre el resultante del secado por liofilización (86.30/o y 85.00/o) y el secado por atomización (84.30/o y 83.50/o) para neutrasa y alcalasa, respectivamente.

### CONCLUSIONES

Los hidrolizados resultantes acusaron un contenido promedio de proteínas de 670/o en base húmeda, indistintamente de la enzima usada o del proceso de secado utilizado. El sabor amargo de los hidrolizados pudo ser enmascarado con la adición de azúcar y ácido cítrico, obteniéndose con alcalasa 0.6L al 100/o de hidrólisis, y con neutrasa al 80/o, un material que no presenta sabor amargo.

El proceso en general mejora la solubilidad de las proteínas, lo que permitiría su uso eventual en la preparación de alimentos líquidos.

El estudio cinético demostró una mayor afinidad de la enzima por el sustrato a temperaturas cercanas a 50°C al usar neutrasa, y 60°C, alcalasa.

### SUMMARY

#### ENZYMATIC MODIFICATION OF PROTEINS OF COMMERCIAL SESAME (*Sesamum indicum*, L.) MEALS

Sesame (*Sesamum indicum*, L.) is one of the most important oilseed crops in Venezuela. However, the low solubility of the flour made of commercial meals does not allow its use in the preparation of fluid foods.

To solve this situation, the alternative of solubilizing the sesame proteins by an enzymatic method, using commercial proteases, was studied. Hydrolysis was carried out with two types of bacterial proteases: neutrasa 0.5L, and alcalase 0.6L.

Basically, the process consisted of milling and sieving the sesame cake (60 mesh), concentrating the proteins by solubilizing them at a pH of 9.5, and then precipitating at a pH of 4.5. Proteins were hydrolyzed by an enzymatic method, and the hydrolysates freeze-dried and spray-dried.

Optimal conditions of hydrolysis using neutrase 0.5L at a pH of 7 were: 60/o substrate concentration, 30/o enzyme:substrate ratio, temperature  $50^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ , and hydrolysis degree of 80/o. When alcalase 0.6L was used at a pH of 8, optimal conditions were: 80/o substrate concentration, 2.30/o enzyme:substrate ratio, temperature  $58^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ , and hydrolysis degree of 100/o.

The enzyme affinity (Km) was best at temperatures near the optimal temperature for the hydrolysates.

Dried hydrolysates had protein values which ranged between 66.30/o and 66.90/o and a nitrogen solubility in water, of approximately 850/o.

Hydrolysis yields referred to the concentrate dried mass were 420/o for the atomized hydrolysate, and 560/o for the freeze-dried one.

In conclusion, the enzymatic hydrolysis process improved the nitrogen solubility in water of the sesame proteins.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan su reconocimiento a la Compañía Weber Representaciones, Caracas, por su valiosa colaboración en el suministro de muestras e información acerca de las enzimas.

Asimismo, agradecen a la Empresa FACEGRA, el suministro de la torta de ajonjolí que se utilizó en el estudio.

## BIBLIOGRAFIA

1. Villegas, A. M., A. González & R. Calderón. Microbiological and enzymatic evaluation of sesame protein. *Cereal Chem.*, **45**:379-385, 1968.
2. El Tinay, A. H., A. H. Khattab & M. O. Khidir. Protein and oil compositions of sesame seed. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **53**:648-653, 1976.
3. Johnson, L. A., T. M. Suleiman & E. W. Lusas. Sesame protein: A review and prospectus. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **56**:453-468, 1979.
4. Rivas, N., J. Dench & J. C. Caygill. Nitrogen extractability of sesame (*Sesamum Indicum*, L.) seed and the preparation of two protein isolates. *J. Sci. Food Agr.*, **32**:565-571, 1981.
5. Silva, G. & H. Riveros. Food products derived from sesame seeds. Dehulling of seeds and production of defatted meal and a protein liquid. *Revista del Instituto de Investigaciones Tecnológicas (Bogotá)*, **21**:34-64, 1979.
6. Krishna Murti, C. R. Oil cake meal for preparation of protein hydrolysate. *Biotechnol. Bioeng.*, **VII**: 285-293, 1965.
7. Sreekantiah, K. R., H. Ebine, T. Ohta & M. Nakano. Enzymic processing of vegetable protein foods. *Food Technol.*, **23**:1055-1061, 1969.
8. Spinelli, J., B. Koury & R. Miller. Approaches to the utilization of fish for the preparation of protein isolates. Enzymic modification of myofibrillar fish protein. *J. Food Sci.*, **37**:604-608, 1972.
9. Hevia, P., J. R. Whitaker & H. S. Olcott. Solubilization of a fish protein concentrate with proteolytic enzymes. *Agr. Food Chem.*, **24**:383-385, 1976.
10. Arzu, A., M. Mayorga & C. Rolez. Enzymatic hydrolysis of cottonseed protein. *J. Agr. Food Chem.*, **20**:805-809, 1972.
11. Childs, E.A. An enzymatic-chemical method for extraction of cottonseed protein. *J. Food Sci.*, **40**:78-80, 1975.
12. Adler-Nissen, J. Enzymatic hydrolysis of food protein. *Process. Biochem.*, **12**: 18-32, 1977.
13. Olsen, S. H., J. Adler-Nissen, H. J. Jensen & O. Moller. Enzymatic hydrolysis of soy proteins. Processing developments and applications in low pH foods. International Congress of Food Science and Technology. Abstracts p. 128. En: *Novo Ind. A/S Enzymes*. Div. DK-2880 Bagsvaerd, Denmark, 1978.
14. Constantinides, A. & B. Adu-Amankwa. Enzymatic modification of vegetable protein: Mechanism, kinetics, and production of soluble and partially soluble protein in a batch reactor. *Biotechnol. Bioeng.*, **XXII**: 1543-1565, 1980.
15. Adler-Nissen, J. Enzymatic hydrolysis of soy protein for nutritional fortification of low pH food. *Ann. Nutr. Alim.*, **32**:205-216, 1978.
16. Novo Industri A/S. Information leaflet about Neutrase 0.5L. Enzymes Division, Denmark, 1978a.
17. Novo Industri A/S. Information leaflet about Alcalase 0.6L. Enzymes Division, Denmark, 1978a.

18. Novo Industri A/S. El uso de alcalasa o neutrasa. Calidad "alimenticia" para una hidrólisis enzimática controlada de proteínas. Enzymes Division, Dinamarca, 1978c.
19. Kimmel, J. R. & E. L. Smith. Crystalline papain. I. Preparation, specificity and activation. *J. Biol. Chem.*, **207**:515-531, 1954.
20. Lehninger, A. L. *Bioquímica*. Barcelona, Editorial Omega, 1978, p. 189-222.
21. Richardson, T. Enzimas. En: *Introducción a la Ciencia de los Alimentos*. Fenema (Ed.). España, Reverté S. A., 1982, p. 331-401.
22. Association of Official Agricultural Chemists. *Official Methods of Analysis of the AOAC*. 12th ed. Washington, D. C. The Association, 1975.
23. Franzen, K. L. *The Preparation, Functional Characterization, and Uses of Chemically Derived Food Protein*. Tesis doctoral (Ph.D.) Food Technology. Cornell University. Ithaca, New York, 1976.
24. Shamanthaka Sastry, M. C., N. Subramanian & R. Rajagopalan. Studies on the wet dehulling of sesame seed to obtain superior grade protein concentrates. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **46**:592A-596A, 1969.
25. Jaffé, W. G. & J. F. Chávez. El posible uso de harina de ajonjolí para fines comestibles. *Arch. Latinoamer. Nutr.*, **11**:31-48, 1971.
26. Brito, O. J. & N. Núñez. Evaluation of sesame flour as a complementary protein source for combinations with soy and corn flours. *J. Food Sci.*, **47**:457-460, 1982.
27. Conn & Stumpf. *Bioquímica Fundamental*. México D. F., México, Editorial Limusa, 1977.
28. Yamashita, M., S. Arai, J. Matsuyama, H. Kato & M. Fujimaki. Enzymatic modification of protein in foodstuffs. *Agr. Biol. Chem.*, **34**:1492-1496, 1970.
29. Matoba, T. & T. Hata. Relationship between bitterness of peptides and their chemical structures. *Agr. Biol. Chem.*, **36**:1423-1431, 1972.
30. Noguchi, M., M. Yamashita, S. Arai & M. Fujimaki. On the bitter-masking activity of a glutamic acid-rich oligopeptide fraction. *J. Food Sci.*, **40**:367-369, 1975.
31. Adler-Nissen, J. Enzymatic hydrolysis of proteins for increased solubility. *J. Agr. Food Chem.*, **24**:1090-1093, 1976.