

INDICE GENERAL

CAPITULO 1: INTRODUCCIÓN GENERAL

1. INTRODUCCION Y OBJETIVOS GENERALES.....	2
1.1 GENERALIDADES SOBRE LAS LIPASAS.....	2
1.2 MECANISMO DE ACCION DE LAS LIPASAS.....	5
1.3 INFLUENCIA DEL PH Y DE LA TEMPERATURA SOBRE LA ACTIVIDAD DE LAS LIPASAS.....	7
1.4 SELECTIVIDAD DE LAS LIPASAS.....	8
1.5 ORIGEN DE LAS LIPASAS.....	10
1.5.1 <i>Lipasas de hongos</i>	10
1.5.2 <i>Lipasas bacterianas</i>	11
1.5.3 <i>Lipasas de maníferos</i>	11
1.5.4 <i>Lipasas de plantas</i>	11
1.6 ESTRUCTURA DE LAS SEMILLAS.....	15
1.7 PROCESO DE GERMINACION.....	16
<u>2. OBJETIVO DE LA TESIS.....</u>	19

CAPITULO 2: MATERIALES Y METODOS

2. MATERIALES Y METODOS.....	22
2.1 MUESTRAS EMPLEADAS.....	22
2.2 DETERMINACIÓN DE LA VELOCIDAD DE GERMINACIÓN.....	22
2.3 DETERMINACION DEL AUMENTO DE MASA DE LAS SEMILLAS DURANTE LA GERMINACION.....	23
2.4 DETERMINACION DE LA VARIACION DEL CONTENIDO DE ACEITE DE LAS SEMILLAS DURANTE LA GERMINACION.....	24
2.5 DETERMINACION DE LA VARIACION EN EL CONTENIDO DE GLICERIDOS PARCIALES Y DE ACIDOS GRASOS LIBRES EN EL ACEITE DURANTE LA GERMINACION.....	25

2.6 DETERMINACION DE LA COMPOSICION EN ACIDOS GRASOS DEL ACEITE POR CROMATOGRAFIA DE GASES	26
2.7 ENSAYO DE ACTIVIDAD HIDROLITICA.....	27
2.7.1 OBTENCION DE PREPARADOS CON ACTIVIDAD LIPOLITICA.....	27
2.7.2 HIDROLISIS DE ACEITES CON LOS PREPARADOS CON ACTIVIDAD LIPOLITICA:	
HIDROLISIS EXOGENA.....	28
2.7.3 EXTRACCION DE LA FASE OLEOSA DEL SISTEMA REACCIONANTE.....	31
2.7.4 SEPARACION Y ANALISIS CROMATOGRAFICO DE LA FRACCION HIDROLIZADA DE LA FASE OLEOSA.....	34

CAPITULO 3: ELECCION DE LAS SEMILLAS DE PLANTAS DE DIFERENTES FAMILIAS EN FUNCION DE SU VELOCIDAD DE GERMINACION Y DE SU CONTENIDO DE ACEITE Y DE AGUA

3.1 INTRODUCCION.....	37
3.2 DETERMINACION DEL CONTENIDO DE ACEITE Y DE AGUA DE LAS SEMILLAS EN EL ESTADIO E ₀	39
3.3 VELOCIDAD DE GERMINACION.....	41
3.4 COMPOSICION DEL ACEITE DE LAS SEMILLAS SIN GERMINAR.....	47
3.5 CONCLUSIONES.....	62

CAPITULO 4: ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD HIDROLITICA DE DIFERENTES SEMILLAS EN FUNCION DE LOS ESTADIOS DE GERMINACION

4.1 INTRODUCCION.....	64
4.2 RESULTADOS.....	66
4.2.1 ACHICORIA DE RAÍZ (<i>Cichorium intybus</i>).....	67
4.2.2 CARDO DE CASTILLA (<i>Cynara cardunculus</i>).....	71
4.2.3 COLZA variedad 00 (<i>Brassica napus</i> cv. Ceres).....	76
4.2.4 GIRASOL (<i>Helianthus annuus</i> L.).....	81
4.2.5 MORRON (<i>Capsicum annum</i> L.).....	86
4.2.6 NABIZA (<i>Brassica napus</i> L.).....	91

4.2.7 NABO (<i>Brassica napus L. cultivada</i>)	95
4.2.8 RABANITO DE PUNTA BLANCA (<i>Raphanus sativus L. var. Acanthiformis Makino</i>)	99
4.2.9 REPOLLO BLANCO (<i>Brassica oleracea L. var. capitata L.</i>)	104
4.2.10 REPOLLO CRESPO (<i>Brassica oleracea L.</i>)	108
4.2.11 TOMATE PERITA (<i>Lycopersicum esculentum L.</i>)	112
4.2.12 ZANAHORIA (<i>Daucus carota</i>)	116
4.2.13 ZAPALLO DE CASCARA DURA (<i>Cucurbita pepo</i>)	120
4.3 CONCLUSIONES	124
4.3.1 HIDROLISIS ENDOGENA: DISMINUCION DEL CONTENIDO DE ACEITE DE LAS SEMILLAS SEGUN LOS ESTADIOS DE GERMINACION	124
4.3.2 AUMENTO DE MASA EN LOS DIFERENTES ESTADIOS DE GERMINACION	125
4.3.3 HIDROLISIS EXOGENA CON CRUDOS OBTENIDOS CON SEMILLAS EN DIFERENTES ESTADIOS DE GERMINACION	126

CAPITULO 5: ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD HIDROLITICA DE CRUDOS DE DIFERENTES SEMILLAS EN FUNCION DEL TIEMPO DE GERMINACION

5.1 INTRODUCCIÓN	128
5.2 HIDROLISIS ENDOGENA EN FUNCION DEL TIEMPO DE GERMINACION	128
5.3 AUMENTO DE MASA DE LAS SEMILLAS EN FUNCION DEL TIEMPO DE GERMINACION	137
5.4 HIDROLISIS EXOGENA EN FUNCION DEL TIEMPO DE GERMINACION	144
5.5 HIDROLISIS EXOGENA CORREGIDA EN FUNCION DEL TIEMPO DE GERMINACION	149
5.6 COMPARACION ENTRE LA HIDROLISIS ENDOGENA Y LA EXOGENA (CORREGIDA) PARA LAS SEMILLAS EN EL ESTADIO E ₄	156
5.7 VARIACION DE LA HIDROLISIS ENDOGENA, DE LA HIDROLISIS EXOGENA Y DEL AUMENTO DE MASA CON EL TIEMPO DE GERMINACION PARA CADA UNA DE LAS SEMILLAS	159
5.8 COMPARACION DE LAS SEMILLAS DE LA FAMILIA BRASSICA	174
5.9 CONCLUSIONES	178

**CAPITULO 6: OPTIMIZACION DEL ENSAYO DE ACTIVIDAD HIDROLITICA
EXOGENA CON CRUDOS DE SEMILLAS GERMINADAS DE CARDO,
REPOLLO BLANCO Y TOMATE PERITA**

6.1 INTRODUCCIÓN.....	182
6.2 OBJETIVOS Y METODOLOGIA	185
6.2.1 INFLUENCIA DEL pH	186
6.2.2 INFLUENCIA DEL VOLUMEN DE BUFFER EMPLEADO EN LA PREPARACION DEL CRUDO	188
6.2.3 INFLUENCIA DE LA RELACION EXTRACTO ENZIMATICO(crudo): SUSTRATO.....	188
6.2.4 INFLUENCIA DEL TIEMPO DE REACCION.....	189
6.2.5 INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA DE REACCION.....	190
6.3 RESULTADOS.....	191
6.3.1 SEMILLAS DE CARDO EN EL ESTADIO DE GERMINACION E ₄	191
6.3.2 SEMILLAS DE REPOLLO BLANCO EN ESTADIO DE GERMINACION E ₄	202
6.3.3 SEMILLAS DE TOMATE PERITA GERMINADAS EN ESTADIO E ₄	213
6.4 CONCLUSIONES GENERALES.....	224

**CAPITULO 7: ESPECIFICIDAD DE LOS CONCENTRADOS DE LIPASAS
OBTENIDOS CON ACETONA ("ACETONE POWDER") FRENTE A
DIFERENTES SUSTRATOS**

7.1 INTRODUCCION.....	230
7.2 ENSAYOS DE ACTIVIDAD HIDROLITICA EXOGENA CON POLVOS DE ACETONA.....	234
7.3 RESULTADOS.....	237
7.3.1 GRADO DE HIDROLISIS EXOGENA.....	237
7.3.2 ESTUDIO DE LA SELECTIVIDAD DE LAS LIPASAS RESPECTO A LOS ACIDOS GRASOS.....	240
7.3.3 ESTUDIO DE LA SELECTIVIDAD POSICIONAL DE LAS LIPASAS.....	252
7.4 CONCLUSIONES.....	253

CAPITULO 8: ESTUDIO DEL EFECTO DE DISTINTOS COFACTORES EN LA ACTIVIDAD HIDROLITICA DE LAS LIPASAS OBTENIDAS BAJO FORMA DE "ACETONE POWDER"

8.1 INTRODUCCION.....	255
8.2 ENSAYO DE ACTIVIDAD.....	259
8.3 RESULTADOS.....	261
8.3.1 FACTOR TRITON X 100 (TENSOACTIVO).....	261
8.3.2 FACTOR CALCIO.....	263
8.3.3 FACTOR MAGNESIO.....	265
8.4 CONCLUSIONES.....	267

CAPITULO 9: CONCLUSIONES GENERALES

9.1 ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD LIPOLITICA ENDOGENA DE SEMILLAS GERMINANTES	269
9.1.1 HIDRÓLISIS ENDÓGENA: DISMINUCIÓN DEL CONTENIDO DE ACEITE DE LAS SEMILLAS SEGÚN LOS ESTADIOS DE GERMINACIÓN.....	270
9.1.2 AUMENTO DE MASA EN LOS DIFERENTES ESTADIOS DE GERMINACION.....	270
9.2 HIDROLISIS EXOGENA.....	271
9.2.1 HIDROLISIS EXOGENA CON CRUDOS OBTENIDOS CON SEMILLAS EN DIFERENTES ESTADIOS DE GERMINACIÓN.....	271
9.2.2 OPTIMIZACION DE LA REACCION DE HIDROLISIS CON CRUDOS DE ALGUNAS SEMILLAS.....	273
9.3 ESTUDIO DE LAS LIPASAS BAJO FORMA DE POLVOS DE ACETONA.....	276
9.3.1 ACTIVIDAD DE LOS CONCENTRADOS DE LIPASAS OBTENIDOS POR EXTRACCION CON ACETONA.....	276
9.3.2 INFLUENCIA DEL AGREGADO DE COFACTORES.....	277
9.4 RESUMEN Y CONCLUSIONES FINALES.....	278

CAPITULO 10: REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

BIBLIOGRAFIA.....	279
-------------------	-----