**Proteínas en Frutos Secos: algo más que alérgenos**

**Nuts Protein: more than allergen**

**RESUMEN**

Los frutos secos poseen propiedades benéficas para la salud, por lo que éstos ya son parte de la dieta en humanos; sin embargo, también son un riesgo en consumidores sensibles a alérgenos proteicos presentes en frutos secos. Por ello, gran parte de la investigación sobre las proteínas de los frutos secos, se enfoca en determinar alergénicos presentes en estos mismos y, en generar métodos que simplifiquen su identificación. De esta manera, las técnicas proteómicas han sido aplicadas recientemente en este campo de la investigación en alimentos. Además la proteómica también juega un rol importante en el estudio de frutos secos almacenados, con la finalidad de preservar las propiedades nutricionales el mayor tiempo posible, y por último, medir diferencias proteómicas en frutos de una misma especie, ocasionadas por factores ambientales, implementando así, herramientas tecnológicas y estrategias metodológicas para obtener información sobre las proteínas de estos alimentos que son benéficos para la salud.

**Palabras clave;** proteómica, frutos secos, alergénicos, almacenaje, ambiente.

**ABSTRACT**

Dry fruits, like nuts, possess beneficial properties for health, therefore, they are already part of the human diet; however, they are also a health risk to consumers sensitive to peptide allergens present in nuts. Research in nut proteins has mainly focused on determining nut allergens and generating methods to simplify identification. This is how proteomic techniques have been recently applied in this food research area. Proteomics also plays an important role in the study of stored tree nuts, in order to preserve the nutritional properties a long period of time, and finally, in the evaluation of differences in fruits of the same species, caused by environmental factors. Proteomic studies are helpful in creating and implementing new technological tools and methodological strategies for gathering information in the proteins of these foods beneficial to health.

**Keywords;** proteomics, tree nuts, allergenic, storage, environmental.

**INTRODUCCIÓN**

Las nueces ó frutos secos, en la actualidad tienen un lugar importante en la dieta humana, debido a su sabor, textura y principalmente, por las propiedades nutricionales que son un beneficio para la salud. Una gran variedad de árboles generan frutos secos, siendo los más populares las nueces pecaneras, avellanas, almendras, pistachos y nuez de castilla, entre otros. Las nueces pecaneras y de castilla pertenecen a la familia *Juglandaceae,* en esta familia, se encuentran los árboles de los géneros *Juglans* y *Carya*, los cuales son los más distribuidos y explotados comercialmente alrededor del mundo [[1](#_ENREF_1)]. Otros frutos secos que son de interés económico en el mundo, son las almendras, que pertenecen a la familia de las *Rosaceae*, siendo el género *Prunus* el más importante, estando solo por debajo de las nueces pecaneras en producción mundial en el 2010 [[2](#_ENREF_2)]. Dentro de la familia *Betulaceae*, la avellana, del género C*orylus* es el más importante comercialmente [[3](#_ENREF_3)]. Mientras que los pistachos de la familia *Anacardiaceae*, del género *Pistacia*, son los únicos que proveen granos consumibles [[4](#_ENREF_4)].

Estos frutos son parte de la dieta básica, ya que proporcionan altos niveles de energía y, cada especie de fruto varia en la composición nutricional, los cuales pueden contener proteínas vegetales, ácidos mono y poli insaturados, fibra dietética, vitaminas, folato, polifenoles, magnesio, cobre, selenio y potasio, entre otras propiedades nutrimentales [[5](#_ENREF_5)].

Los frutos secos anteriormente mencionados, son considerados un alimento importante en la dieta humana, debido al elevado potencial de salud que presentan, siendo nombrados “protectores del corazón” [[6](#_ENREF_6)] y aparentemente también pueden ayudar en el manejo y prevención de la diabetes [[7](#_ENREF_7)], y se continúan realizando estudios debido a que probablemente también ejercen beneficio mediante el control de peso [[8](#_ENREF_8)]. Estos frutos se consumen en todo el mundo, por las propiedades netamente nutricionales como las que se describen en tabla 1, donde se observa que la nuez pecanera contiene el mayor porcentaje de lípidos, ORAC, fenoles y flavonoides, mientras las almendras contienen el mayor porcentaje de proteínas, azúcar y fibra y por último los pistachos con mayor cantidad de aminoácidos, deduciendo que la nuez pecanera contiene propiedades nutricionales (acido grasos en forma de triglicéridos mayormente poliinsaturados y antioxidantes) más importantes entre los frutos secos presentes en la tabla 1.

**Tabla 1. *Propiedades de frutos secos.***

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| ***Propiedades*** | ***Nuez pecanera*** | ***Almendras*** | ***Avellanas*** | ***Pistachos*** | ***Nuez de Castilla*** |
| *Proteínas (g/100g)* | 8.3 | **21.4** | 17.3 | 20.2 | 14.3 |
| *Lípidos (g/100g)* | **69.1** | 47.0 | 60.6 | 44.8 | 64.9 |
| *Azúcar (g/100g)* | 2.8 | **4.8** | 2.9 | 4.6 | 2.3 |
| *Fibra dietética (g/100g)* | 9.6 | **12.4** | 6.5 | 10.3 | 6.7 |
| *Aminoácidos totales %* | 33.3 | 31.2 | 33.5 | **39.1** | 34.7 |
| *ORAC (µmol)* | **179.40** | 44.54 | 96.45 | 79.83 | 135.41 |
| *Fenoles (mg de GAE/g)* | **20.16** | 4.18 | 8.35 | 16.57 | 15.56 |
| *Flavonoides (mg)* | **34.01** | 15.24 | 11.96 | 14.37 | 2.71 |

Tomado de: *Tree Nuts, Composition, Phytochemicals, and Health Effects, 2009.*

*\*capacidad de absorción de radicales libres de oxigeno (ORAC).*

\*equivalente de ácido gálico por gramo (GAE).

Las proteínas juegan un rol importante en la función celular y el metabolismo, además de formar parte de la estructura celular, por lo que es posible comparar expresión de proteínas entre grupos y, obtener información sobre fisiología, salud ó evolución [[9](#_ENREF_9)]. Estas pueden estar de forma simple o en alguna mezcla compleja, además, pueden modificarse de forma natural ó ser manipuladas por el hombre, con lo que puede resultar en alguna toxina, alergénico ó lo contrario, en un incremento en propiedades benéficas, de ahí el interés de analizar y determinar tanto la seguridad como la calidad nutrimental de proteínas y otros factores presentes en alimentos cultivados y consumidos por el hombre, como los frutos secos [[10](#_ENREF_10)]. Por lo tanto la ciencia se ha enfocado en generar nuevas herramientas tecnológicas y metodológicas que permitan explorar tanto a genes, funciones biológicas y expresión de proteínas [[9](#_ENREF_9)]. Esta última, con la finalidad de analizar patrones ó cambios en ciertas proteínas, además de clasificar y caracterizar la función de estas mismas [[11](#_ENREF_11)]. Entre las herramientas y metodologías se incluyen la separación de proteínas en geles de poliacrilamida tanto de dos dimensiones ó de una dimensión, la técnica de ELISA y la caracterización de proteínas mediante digestión y espectrometría de masas, además de la exploración de proteínas utilizando herramientas bioinformáticas, entre otras [[12](#_ENREF_12)].

**Determinación de alergénicos en alimentos mediante proteómica**

Sin embargo, a pesar de su propiedades benéficas, los frutos secos ya mencionados, generan reacciones alérgicas en consumidores sensibles en todo el mundo, por lo que la mayoría de las investigaciones de frutos secos se han enfocado en determinar alergénicos que afectan a consumidores, ya que estos provocan alergias en un 2% en adultos y un 8% en niños en países occidentales, según Sathe *et al*, 2001, mientras Sicherer reporta que en el 2008 fue de 1.3 % en adultos y del 2.1% en niños, solo en Estados Unidos, observando un incremento de alergias año con año [[13](#_ENREF_13), [14](#_ENREF_14)]. La comisión de Codex Alimentarius, en 1985, fue el primero en realizar una lista de alimentos alergénicos, y obligó a los productores a etiquetar alimentos que los contuvieran, colocando entre estos alimentos, a los frutos secos con alergénicos que pudieran provocar reacciones inmunológicas, afectando la salud de consumidores [[15](#_ENREF_15)].

Debido a que el único método efectivo de evitar alergias en consumidores sensibles, es el evitar consumirlos, se continúan generando nuevas metodologías que permitan resolver este problema, para lograr la detección de trazas mínimas de proteínas alergénicas en alimentos [[16](#_ENREF_16)]. Además de la necesidad de métodos específicos en la detección de ciertos alergénicos, para evitar falsos positivos, con lo cual sea posible realizar detecciones de manera rápida y eficiente [[17](#_ENREF_17)].

Mediante metodologías proteómicas, como las técnicas de Dodecilsulfato de Sodio en Gel de Poliacrilamida (SDS-PAGE) y ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) es posible identificar y obtener marcadores proteicos antigénicos, como las proteínas de nuez pecanera 7S vicilina, 11S legúmina y el alergénico I1, este último, presente en altas concentraciones en extractos de proteínas. Además, mediante estas técnicas, se pudo determinar la unió de la 11S a suero de pacientes sensibles a esta proteína, y por otra parte, se observó que el alergénico Car i 4 y la proteína albumina 2S del alergénico Car i 1, comparten regiones con leguminas de otros frutos secos presentes en alimentos procesados, destacando la importancia de metodologías proteómicas sobre la detección y selectividad de alergénicos [[18-20](#_ENREF_18)].

Mediante la técnica proteómica de Western blot, se determinó que la proteína 11S, es la principal alergénica de la nuez pecanera, además que está presente en la almendra, avellana, pistacho, nuez de castilla y cacahuates. Esta legúmina se produce como un hexámero compuesto de subunidades monoméricas de ̃50-60 kDa, y los frutos secos mencionados, poseen gran similitud entre ellos, no solo en la secuencia de aminoácidos, sino también comparten una homología estructural al unirse a la IgE, por lo que es importante implementar metodologías simples y de detección en el menor tiempo posible, ya que esta proteína provoca reacciones alérgicas y se encuentra presente en varios frutos [[19](#_ENREF_19)].

Por otra parte, la proteína primaria de almacenaje AMP ó amandín, que es la principal alergénica de almendras entre consumidores sensibles, es muy predecible a la hora de su detección, ya que permanece muy estable aún bajo varios tratamientos (tostado, escaldado, auto clave), mediante la aplicación de análisis proteómicos se pueden detectar trazas presentes de esta proteína, en alimentos compuestos [[21](#_ENREF_21)], siendo la proteína AMP, un excelente marcador para detectar cantidades mínimas en alimentos [[22](#_ENREF_22)]. Mientras tanto, las avellanas contienen el alergénico Bet v 1, causante de reacciones alérgicas en el 79% de pacientes sensibles, y pertenecen a la misma familia del mayor alergénico de avellanas, el Cor a 1, incrementando así, la respuesta inmune mediada por las IgE, determinándose mediante SDS-PAGE [[23](#_ENREF_23)], sin embargo, otra técnica proteómica que se utiliza para detectar este alergénico y otros, es mediante digestión de proteínas y posterior análisis de Espectrometría de Masas en Tándem, el cual es altamente confiable y especifico y, hace posible determinar alergénicos como el Cor a 8, Cor a 9 y el Cor a 11, o cualquier otra proteína o péptido en alimentos, abarcando así, un amplio espectro de alergénicos en un solo analito [[20](#_ENREF_20)]. La unión de los principales alergénicos Pis V 1, Pis V 2, Pis V3 y 4 con la IgE, presentes en pistachos, los cuales son asados en vapor, entre otros procesos y, observados en geles de SDS, se ven afectados significativamente en la unión de alergénicos con la IgE, sin alterar la calidad, color, sabor y textura del pistacho, siendo esto una opción para la comercialización de este fruto, disminuyendo en gran medida el riesgo de presentar alguna reacción alérgica [[24](#_ENREF_24)].

Por otro lado la proteína similar a la ciclina, determinada por SDS-PAGE, ELISA y espectrometría de masas, en nueces de *Carya illinoinensis*, es causante de reacciones cruzadas [[25](#_ENREF_25)] con otra proteína de un peso molecular de 64 kDa, de la familia de la vicilina en consumidores sensibles, provocándoles reacciones alergénicas cruzadas que puede ser muy severas en algunos consumidores, obteniendo así, probables soluciones proteómicas para detección y prevención de estas reacciones entre proteínas que incrementen el riesgo de daño en la salud [[18](#_ENREF_18)].

**Proteómica en frutos secos almacenados**

La proteómica se comienza a enfocar en el análisis de propiedades de alimentos almacenados, con la finalidad de determinar los cambios bioquímicos y nutricionales que puedan modificarse. Los frutos secos, después de ser cosechados, se almacenan en condiciones que eviten la degradación, cambio fisiológico, morfológico y disminución en la calidad, por lo que es necesario conocer las variables que generen posibles cambios en frutos secos una vez almacenados, para su posterior venta y consumo. La germinación en las nueces pecaneras almacenadas en humedad cálida, aumenta un 20% a 27° C y un 55% en humedad fría a 5° C, además, provoca un cambio en el patrón de proteínas solubles tanto en humedad cálida como en fría, además incrementa la actividad de la enzima catalasa en condiciones cálidas, modificando las propiedades proteicas del fruto, incrementando las solubilidad de las mismas, siendo más susceptibles a sufrir acciones proteolíticas [[26](#_ENREF_26)].

Mientras que la estabilidad de proteínas y lípidos de *Juglans regia,* posterior a un almacenamiento de 8 meses, permanecen sin cambio significativo, visto en patrones de proteínas en SDS-PAGE, aunque se incrementan los péptidos solubles y se comprobó que ante diversos métodos de almacenamiento, el recipiente para almacenaje recubierto con aluminio, es el más efectivo para proteger de la luz, tanto a lípidos como proteínas, evitando la proteólisis y manteniéndolas estables por un periodo de hasta 8 meses [[27](#_ENREF_27)]. A diferencia, las proteínas de avellanas, se ven afectadas significativamente, tanto cuantitativa como estructuralmente, dependiendo del tiempo de almacenaje y el método de extracción utilizado, con lo que se pueden analizar algunos péptidos de interés mediante la mejor extracción proteómica y tiempo adecuado, ya que cuando estos frutos se encuentran almacenados por tiempo prolongado, se pierde la capacidad de unión con ciertos antígenos de interés [[28](#_ENREF_28)].

Los frutos secos ya mencionados, contienen a la enzima *Tiorredoxina h*, la cual activa enzimas proteasas tipo serinas, como la *tiocalsina*, que generan reducción en proteínas de almacenaje, mediante el rompimiento de enlaces, sin embargo, la reducción y solubilización de proteínas de nueces *Juglans regia* en almacenamiento, no la provoca esta enzima, comprobado mediante análisis de cambios redox en proteínas de almacenaje, bajo condiciones de humedad y estratificación. Aún mediante análisis proteómico en SDS-PAGE, no se detecta actividad de la enzima *tiorredoxina*, por lo que aún no se determina exactamente, que genera cambios en la movilización de proteínas de *Juglans regia* almacenadas [[29](#_ENREF_29)].

La proteómica también puede utilizarte para implementar métodos en los cuales se incremente la calidad nutricional de frutos secos, como los hicieron Xiaoying Mao y Yufei Hua, 2012, con proteínas y aminoácidos en distintos concentrados de proteínas y aislado de proteínas de nuez *Juglans regia*, con lo que incrementa la absorción de agua y grasa, al igual que la concentración de aminoácidos esenciales tanto en niños como en adultos, rebasando los estándares recomendados, pudiendo así, generar alimentos enriquecidos de proteínas vegetales y aminoácidos esenciales, mediante la implementación de métodos proteómicos [[30](#_ENREF_30)].

**Factores externos y proteómica**

Mediante técnicas proteómicas mencionadas anteriormente, se puede analizar el proteoma total, enzimas o metabolitos para clasificar y diferenciar poblaciones de una misma especie, tanto en animales como plantas, pudiendo relacionar alguna modificación con el propio entorno ó factor externo, que provoque algún cambio en el proteoma, con el fin de entender de mejor manera el por qué la diferencia entre la proteómica de una misma especie, ya sea de animal o planta [[31](#_ENREF_31)].

La localidad de cultivo ejerce cambios bioquímicos y proteómicos en árboles *Carya illinoinensis*, donde se generan cambios significativos entre la composición bioquímica, siendo la humedad de la nuez, ceniza y taninos las diferencias más significativas, así como cambios en niveles de lípidos, azúcar soluble y proteínas, estas últimas, siendo diferentes entre distintos cultivos, a pesar de ser la misma especie, pero de diferentes localidades dentro de EU [[32](#_ENREF_32)]. Mientras, en Australia, existe una evidente diferencia entre los niveles de proteínas de árboles *Carya illinoinensis* de dos variedades (Wichita y Western), al ser comparados con las mismas variedades de Estados Unidos, utilizando las mismas técnicas proteómicas. Pudiendo deberse esta notable diferencia, al clima, la localidad de cultivo y de las diferentes prácticas agrícolas entre huertos [[33](#_ENREF_33)].

Las proteínas son blanco de ataques de oxidantes, por lo que la coloración de diferentes extractos de nuez *Carya illinoinensis* se puede ligar a una alta variación en la cantidad de antioxidantes, y a su vez, al color de la nuez y, cambios en patrones de proteínas. Tal variación dependerá de las distintas localidades de siembra y recolección, fecha de cosecha, variación climática y la cantidad de huertos, pudiendo así, determinar morfológicamente los probables niveles de antioxidantes en nueces pecaneras [[34](#_ENREF_34)].

El éxito de cruzas hibridas de árboles *Juglans regia* y *Juglans nigra* para generar frutos de mejor calidad, dependerá del proteoma para que esto ocurra, por lo que esto no se ha logrado, ya que el proteoma de ambas, presenta diferencias principalmente en los patrones de proteínas solubles, tanto cualitativa como cuantitativamente, y en la ultraestructura celular, además que la temperatura y la humedad ejercen cambios en el tiempo de maduración y polinización entre ambas especies, siendo diferente para cada uno, debido a que un árbol es nativo del Medio Oriente y el otro del Este de Estados Unidos, por lo tanto estas diferencias, evitan que se pueda llevar a cabo una hibridación de forma natural, denotando la importancia del proteoma entre árboles, para llevar acabo funciones de forma natural [[35](#_ENREF_35), [36](#_ENREF_36)].

**Conclusión**

Aún se continúa implementnado metodologías para la detección de trazas de proteínas alergénicas en alimentos. Se han generado posibles marcadores moleculares para la detección de alergénicos obtenidos mediante análisis del DNA, sin embargo, aún existe debate en cual es el mejor tipo de marcador, si una proteína ó alguna molécula de DNA, con el propósito de utilizarse para análisis de rutina en la detección de alergénicos en alimentos. En años recientes, se han duplicado los esfuerzo tanto científicos, toxicológicos, alergólogos y manufactureros por disminuir los alergénicos en alimentos procesados, sin alterar la calidad de frutos secos. Debido a que la única manera de evitar problemas de salud en consumidores sensibles, es evitar ingerir ciertas proteínas ó trazas alergénicas, se siguen generando diferentes metodologías y herramientas para detectar estas trazas, lo cual ha incrementado el interés en esta área.

También es necesario evitar la degradación ó modificación de propiedades cualitativas en frutos secos, por lo que es importante continuar modificando metodologías ó herramientas que permitan mantener las mejores condiciones ambientales y nutrimentales para mantener huertos más productivos, además de evitar la pérdida de propiedades benéficas de frutos almacenados, por el tiempo lo más prolongado posible, evitando así la degradación de nutrientes esenciales, además que estos frutos generan recursos de importancia económica a nivel mundial.

Los nutrientes y la variabilidad proteómica de granos secos de una misma especie, dependerá tanto de factores genéticos, ambientales, como la región de cultivo, el método, las condiciones climáticas que pueden variar en ciertas temporadas de cosecha y la madurez del fruto, entre otros factores que los arboles requieren modificar en su proteoma según su necesidad. Es necesario continuar con la implementación de nuevas herramientas y metodologías proteómicas, para determinar cómo es que factores externos afectan la productividad en frutos de una misma especie [[37](#_ENREF_37)] .

**REFERENCIAS**

# 1. Aradhya, M.K., et al .2007*Molecular phylogeny of Juglans (Juglandaceae): a biogeographic perspective.* Tree Genetics & Genomes,. 3(4): p. 363-378.

# 2. Costa, J., et al., .2012*Almond Allergens: Molecular Characterization, Detection, and Clinical Relevance.* Journal of Agricultural and Food Chemistry. 60(6): p. 1337-1349.

# 3. Dogan, S.K.a.Y. 2009.*Genetic Characterization of Hazelnut (Corylus avellanaL.) Cultivars from Turkey Using Molecular Markers.pdf* Hortscience. 44(6): p. 1557–1561.

# 4. T. Chahed, A.B., W. Dhifi, I. Hamrouni, B. M’hamdi, M.E. Kchoukand B. Marzouk. 2008. *Pistachio (Pistacia vera)seed oil composition: geographic situation and variety effects.pdf.* Grasas Y Aceites. 59 (1): p. 51-56.

# 5. O'Neil, C.E., et al. 2010. *Tree nut consumption improves nutrient intake and diet quality in US adults: an analysis of National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 1999-2004.* Asia Pac J Clin Nutr. 19(1): p. 142-50.

# 6. Soetaert, M.D.J., *Qualified Health Claims: Letter of Enforcement Discretion - Nuts and Coronary Heart Disease (Docket No 02P-0505).* 2003. U.S. Food and Drug Administration,. 02P-0505.

# 7. Kendall, C.W., et al., *Health benefits of nuts in prevention and management of diabetes.* Asia Pac J Clin Nutr, 2010. 19(1): p. 110-6.

# 8. Mattes, R.D. and M.L. Dreher. 2010. *Nuts and healthy body weight maintenance mechanisms.* Asia Pac J Clin Nutr. 19(1): p. 137-41.

# 9. Eurich, C., P.A. Fields, and E. Rice. 2012.*Proteomics: Protein Identification Using Online Databases.* American Biology Teacher. 74(4): p. 250-255.

# 10. Zolla, L., et al. 2008.*Proteomics as a complementary tool for identifying unintended side effects occurring in transgenic maize seeds as a result of genetic modifications.* J Proteome Res. 7(5): p. 1850-61.

# 11. Murphy., X.C.M.V.S.W.J.W.J.a.R.F. 2003 .*Location proteomics - Building subcellular location trees from high resolution 3D fluorescence microscope images of randomly-tagged proteins.* SPIE. 4962: p. 1605-7422.

# 12. Dhingra, V., et al. 2005. *New frontiers in proteomics research: a perspective.* Int J Pharm,. 299(1-2): p. 1-18.

# 13. Sicherer, S.H., et al. 2010. *US prevalence of self-reported peanut, tree nut, and sesame allergy: 11-year follow-up.* J Allergy Clin Immunol. 125(6): p. 1322-6.

# 14. Shridhar K. Sathe., S.S.T., Thomas M. Gradziel., and Kenneth H. Roux. 2001. *Electrophoretic and Immunological Analyses of Almond (Prunus dulcisL.) Genotypes and Hybrids.* J. Agric. Food Chem. 49: p. 2043−2052.

# 15. CODEX, *CODEX STAN 1.* 1985. *Amended in 1991, 1999, 2001, 2003, 2005, 2008 and 2010 regarding the general standard for the labelling of prepackaged foods.* Off. Codex Stand. FAO/WHO Standards.

# 16. Costa, J., et al. 2012. *Single-tube nested real-time PCR as a new highly sensitive approach to trace hazelnut.* J Agric Food Chem. 60(33): p. 8103-10.

# 17. Madesis, P., et al. 2012. *Barcode High Resolution Melting analysis for forensic uses in nuts: A case study on allergenic hazelnuts (Corylus avellana).* Food Research International.

# 18. Polenta, G.A., et al. 2011. *Effect of Processing on the Detectability of Pecan Proteins Assessed by Immunological and Proteomic Tools.* Food Analytical Methods. 5(2): p. 216-225.

# 19. Sharma, G.M., et al. 2011. *Cloning and characterization of an 11S legumin, Car i 4, a major allergen in pecan.* J Agric Food Chem. 59(17): p. 9542-52.

# 20. Ansari, P., N. Stoppacher, and S. Baumgartner. 2012. *Marker peptide selection for the determination of hazelnut by LC-MS/MS and occurrence in other nuts.* Anal Bioanal Chem. 402(8): p. 2607-15.

# 21. Roux., S.S.T., Jason M. Robotham,., and Shridhar K. Sathe. 2001. *Detection and Stability of the Major Almond Allergen in Foods.pdf.* J. Agric. Food Chem. 49: p. 2131−2136.

# 22. Ahrens, S., et al. 2005. *Almond (Prunus dulcis L.) Protein Quality.* Plant Foods for Human Nutrition. 60(3): p. 123-128.

# 23. U. Müller., D.L., A. Hoffmann., A. Petersen W.M. Becker., F. Schocker., B. Niggemann., F. Altmann D. Kolarich., D. Haustein and S. Vieths. 2000. *Allergens in raw and roasted hazelnuts (Corylus avellana) and their cross-reactivity to pollen.* Eur Food Res Technol. 212: p. 2–12.

# 24. Noorbakhsh, R., et al. 2010. *Influence of processing on the allergenic properties of pistachio nut assessed in vitro.* J Agric Food Chem. 58(18): p. 10231-5.

# 25. Polenta, G., et al. 2009. *Development of a Competitive ELISA for the Detection of Pecan (Carya illinoinensis (Wangenh.) K. Koch) Traces in Food.* Food Analytical Methods. 3(4): p. 375-381.

# 26. Sadeghipour, R.A.E.a.H.R. 2007. *Alleviation of dormancy in walnut kernels by moist chilling is independent from storage protein mobilization.* Tree Physiology. 27: p. 519–525.

# 27. Diana Labuckas., D.M.a.A.L 2011. *Lipid and protein stability of partially defatted walnut flour (Juglans regiaL.) during storage.* International Journal of Food Science and Technology. 46: p. 1388–1397.

# 28. Dooper, M., et al. 2008. *Antibody binding to hazelnut (Corylus avellana) proteins: the effects of extraction procedure and hazelnut source.* Food and Agricultural Immunology. 19(3): p. 229-240.

# 29. Shahmoradi, Z., et al. 2012. *Redox changes accompanying storage protein mobilization in moist chilled and warm incubated walnut kernels prior to germination.* J Plant Physiol.

# 30. Mao, X. and Y. Hua. 2012. *Composition, Structure and Functional Properties of Protein Concentrates and Isolates Produced from Walnut (Juglans regia L.).* International Journal of Molecular Sciences. 13(2): p. 1561-1581.

# 31. Biro, J.C. 2007. *The Proteomic Code: a molecular recognition code for proteins.* Theoretical Biology and Medical Modelling. 4: p. 10.1186/1742-4682-4-45.

# 32. Venkatachalam, M., et al. 2007. *Biochemical composition and immunological comparison of select pecan [Carya illinoinensis (Wangenh.) K. Koch] cultivars.* J Agric Food Chem,. 55(24): p. 9899-907.

# 33. Wakeling, L.T., et al. 2001. *Composition of pecan cultivars Wichita and Western Schley [Carya illinoinensis (Wangenh.)K. Koch] grown in Australia.* J Agric Food Chem. 49(3): p. 1277-81.

# 34. Block, J.M., et al. 2009. *Phenolic compounds and antioxidant activity of Pecan [Carya illinoinensis (Wangenh.) C. Koch] kernel cake extracts obtained by sequential extraction.* Grasas y Aceites. 60(5): p. 460-469.

# 35. montañes, A.A.y.L. 1984. *Comparación de Métodos Para Suelos.* Trabajo financiado por CAICYT. 61141-04.

# 36. G.L. Calzoni., A.S., R. Caramiello., G. Piccone., and P. Zannini. 1990. *Wall ultrastructure and biochemical features of the Juglans regia L. and duglans nigra L. male gametophyte* Sex Plant Reprod,. 3: p. 139-146.

# 37. Yada, S., K. Lapsley, and G. Huang. 2011. *A review of composition studies of cultivated almonds: Macronutrients and micronutrients.* Journal of Food Composition and Analysis. 24(4-5): p. 469-480.